

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2017.

Kristina Jarni
847/USH

PRIMJENA BUČINE POGAČE I
PROSA U RAZVOJU OBOGAĆENOG
BEZGLUTENSKOG KRUHA

Rad je izrađen u Laboratoriju za kemiju i tehnologiju žitarica na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom doc. dr. sc. Nikoline Čukelj te uz pomoć dipl. ing. Bojane Voučko.

Diplomski rad izrađen je u sklopu znanstveno-istraživačkog projekta Hrvatske zaklade za znanost:
Od nusproizvoda u preradi žitarica i uljarica do funkcionalne hrane primjenom inovativnih procesa
(IP-2016-06-3789).

Zahvaljujem se svim djelatnicima Laboratorija za kemiju i tehnologiju žitarica te Laboratorija za procesno-prehrambeno inženjerstvo koji su pomogli prilikom izrade ovog rada.

Zahvaljujem se mentorici doc. dr. sc. Nikolini Čukelj na strpljenju, susretljivosti, trudu, izdvojenom vremenu i znanju koje je prenijela prilikom izrade ovog rada. Veliko hvala asistentici Bojani Voučko, dipl. ing. na nesebičnoj pomoći i pristupačnosti. Znam da je prenošenje znanja nekad nezahvalno, teško i mukotrpno, te vam ovime želim svima zahvaliti što ste mi dali znanje i životno obrazovanje koje je zaista neprocjenjivo.

Posebno hvala svim prijateljima na podršci i strpljenju, jer to je ono što je bitno, prijatelj kroz život uvijek i u svemu.

Najveća hvala mojoj obitelji, roditeljima i sestri, na bezuvjetnoj ljubavi i podršci kroz sve ove godine. Ovo je na neki način i moj poklon njima, koji me prihvataju kakva jesam, koji su moja slabost i moja snaga i koji me vole i podržavaju bez obzira na sve. Zbog svih vas ja sam danas ovo što jesam i takva sigurna, sa stečenim znanjem, životnim iskustvima i lijepim uspomenama, spremna sam zakoračiti u novo poglavlje svog života, suočavati se s novim izazovima, učiti i skupljati nove uspomene.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za kemiju i tehnologiju žitarica

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

PRIMJENA BUČINE POGAČE I PROSA U RAZVOJU OBOGAĆENOG BEZGLUTENSKOG KRUHA

Kristina Jarni, 847/USH

Sažetak: Cilj ovog rada bio je optimizirati udjele prosenog brašna i bučine pogače u recepturi bezglutenskog kruha s heljdinim i integralnim rižinim brašnom kao baznim brašnima. Prema složenom centralnom planu pokusa varirani su udjeli bučine pogače (10, 20 i 30 % na brašno) i prosenog brašna (10, 30 i 50 % na brašno), a mjereni su volumen, prinos kruha, gubitak vode pečenjem, tekstura i boja kruha. Analizom varijance i metodom odzivnih površina su određeni značajni utjecaji bučine pogače na prinos kruha, gubitak mase kruha pečenjem, na sve parametre teksture i boju kruha dok je proseno brašno značajno utjecalo na rezilijenciju, kohezivnost i boju. Metodom poželjnosti odabrane su dvije najbolje recepture koje su se sastojale od: (I) 10 % prosenog i 12,7 % bučinog brašna i (II) 50 % prosenog i 13 % bučinog brašna. Značajne razlike u senzorskim karakteristikama ta dva kruha nisu utvrđene, a oba su imala povećani udio bjelančevina i vlakana te se mogu označiti kao proizvodi bogati proteinima i vlaknima.

Ključne riječi: bezglutenski kruh, bučina pogača, deklaracija, optimizacija, proso

Rad sadrži: 62 stranica, 19 slika, 10 tablica, 63 literaturnih navoda, 4 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i električkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: doc. dr. sc. Nikolina Čukelj

Pomoć pri izradi: dipl. ing. Bojana Voučko i Lidija Drobac, univ. bacc. ing.

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. Prof. dr. sc. Duška Ćurić
2. Doc. dr. sc. Nikolina Čukelj
3. Doc. dr. sc. Marina Krpan
4. Izv. prof. dr. sc. Sandra Balbino (zamjena)

Datum obrane: 29. rujna 2017.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Engineering
Laboratory for Cereal Chemistry and Technology

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

APPLICATION OF PUMPKIN SEED CAKE AND MILLET IN THE DEVELOPMENT OF ENRICHED GLUTEN-FREE BREAD

Kristina Jarni, 847/USH

Abstract: The aim of this thesis was to optimize the recipe for gluten free bread with buckwheat and whole-grain rice flour as base flours, by varying amounts of pumpkin seed cake and millet flour. Formulations were prepared following a central composite design. The influence of pumpkin seed cake (10, 20, 30 % on flour) and millet flour (10, 30, 50 % on flour) was determined by measuring the volumetric parameters, bread yield, baking loss, texture and color of bread. Analysis of the variance and response surface method showed a significant influence of pumpkin seed cake on bread yields, baking loss, all texture parameters and color, while millet had significant influence on bread resilience, cohesiveness and color. Using the preference method, two recipes were chosen: (I) 10 % millet flour and 12,7 % pumpkin seed cake and (II) 50 % millet flour and 13 % pumpkin seed cake. Breads showed similar sensory characteristics and both had an increased protein and fibre content, thus could be labeled as protein-rich products and sources of fibre.

Keywords: gluten-free bread, label, millet, optimization, pumpkin cake

Thesis contains: 62 pages, 19 figures, 10 tables, 63 references, 4 supplements

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: PhD. Nikolina Čukelj, Assistant Professor

Technical support and assistance: Bojana Voučko, BSc i Lidija Drobac, univ. bacc. ing.

Reviewers:

1. PhD. Duška Ćurić, Full professor
2. PhD. Nikolina Čukelj, Assistant professor
3. PhD. Marina Krpan, Assistant professor
4. PhD Sandra Balbino, Associate professor (substitute)

Thesis defended: 29 September 2017

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
2.	TEORIJSKI DIO	2
2.1.	CELIJAKIJA I NECELIJAKIJSKA GLUTENSKA OSJETLJIVOST	2
2.1.1	Celijakija i drugi autoimuni poremećaji	5
2.2.	OZNAČAVANJE HRANE BEZ GLUTENA	6
2.3.	BEZGLUTENSKI KRUHOVI	10
2.3.1.	Riža i rižino brašno u proizvodnji bezglutenskog kruha	11
2.4.	BUČINA POGAČA, PROSO I HELJDA	11
2.4.1.	Bučina pogača	11
2.4.2.	Proso	13
2.4.3.	Heljda	14
3.	EKSPERIMENTALNI DIO	16
3.1.	MATERIJALI	16
3.1.1.	Sirovine	16
3.1.2.	Reagensi	16
3.1.3.	Aparatura i pribor	18
3.2.	METODE RADA	21
3.2.1.	Plan pokusa razvoja recepture kruha	21
3.2.2.	Probna pečenja bezglutenskog kruha	21
3.2.3.	Određivanje fizikalnih svojstava kruha	23
3.2.4.	Boja sredine i kore kruha	24
3.2.5.	Određivanje teksture	25
3.2.6.	Optimizacija recepture	26
3.2.7.	Određivanje kemijskog sastava sirovina i kruha	26
3.2.8.	Senzorsko ocjenjivanje kruha	33
3.2.9.	Izrada deklaracije	34
3.2.10.	Statistička obrada	34
4.	REZULTATI I RASPRAVA	35
4.1.	Fizikalna svojstva bezglutenskog kruha prema dizajnu eksperimenta	36
4.1.1.	Volumen i specifični volumen kruha	36
4.1.2.	Prinosi volumena i kruha i gubitak pečenjem	37
4.1.3.	Boja sredine i kore kruha	40
4.1.4.	Tekstura kruha	43
4.1.5.	Izgled sredine kruhova	47
4.2.	Utjecaj sirovina na karakteristike kruha i optimizacija	49
4.3.	Kemijski sastav kruha i izrada deklaracije	53
4.4.	Senzorska svojstva kruha	54
5.	ZAKLJUČCI	56
6.	LITERATURA	57
7.	PRILOZI	
	Prilog 1. Upitnik za ocjenjivanje senzorskih svojstava kruha	
	Prilog 2. Deklaracija bezglutenskog kruha od 12,7 % bučine pogače i 10 % prosa	
	Prilog 3. Deklaracija bezglutenskog kruha od 50 % prosa i 13 % bučine pogače	
	Prilog 4. Slike ispečenog kruha s različitim udjelom bučinog brašna	

1. UVOD

Posljednjih godina velika je pozornost znanstvene zajednice posvećena buči kao tradicionalnoj i zdravoj namirnici s hipoglikemijskim i antidijabetskim djelovanjem. Među potrošačima je poznata i zbog sve popularnijeg bučinog ulja koje se proizvodi iz njenih sjemenki. Kod same proizvodnje bučinog ulja, prešanjem bučinih sjemenki kao nusprodukt zaostaje bučina pogača s nezanemarivom prehrambenom vrijednosti. Bučina pogača se do sada prvenstveno koristila kao hrana za životinje, a obzirom da proizvodnja bučinog ulja sve više raste, s održive strane prehrambene industrije bilo bi poželjno bučinu pogaču provesti iz nusproizvoda u sirovinu za daljnju proizvodnju hrane. Zbog svog sastava, dostupnosti i niskih troškova proizvodnje, smatra se vrijednom sirovinom bogatom prehrambenim vlaknima i visokovrijednim proteinima koje mogu konzumirati i oboljeli od celijakije (Milovanović i sur., 2014).

Općenito, trenutno je u zapadnom svijetu popularna prehrana i hrana bez glutena te je u tom smislu izražen i interes za žitarice bez glutena, poput prosa i heljde. Proizvodi bazirani na prosu pokazuju povišene razine proteina, lipida, fenola i prehrambenih vlakana u odnosu na slične tradicionalne proizvode. Također, jedna od prednosti prosa je povoljan utjecaj na razinu šećera u krvi radi niskog glikemijskog indeksa, zbog čega prehrambeni proizvodi koji uključuju proso rezultiraju nižim glikemijskim indeksom (Schoenlechner i sur., 2013). Heljda je također vrijedan izvor proteina, vlakana, fenolnih spojeva, koji posjeduju visoku antioksidativnu aktivnost, te drugih komponenti od kojih neke utječu na snižavanje kolesterola. Pokazalo se da heljda ima utjecaj na smanjenje razine glukoze u krvi te druge blagotvorne učinke na zdravlje (Lin i sur., 2009). Zbog svega navedenog, sve tri spomenute namirnice prikladne su za proizvodnju prehrambenog proizvoda koji će biti pogodan za oboljele od jednih od najčešćih bolesti današnjice, celijakije i dijabetesa.

Stoga je cilj ovog rada bio optimizirati recepturu bezglutenskog kruha s integralnim rižinim i heljdinim brašnom kao baznim brašnima, varirajući različite udjele bučine pogače i prosenog brašna prema složenom centralnom planu pokusa. U radu je ispitan utjecaj količine bučine pogače i prosenog brašna na parametre volumena, prinosa kruha, gubitka pečenjem i teksture metodom odzivnih površina, a kruhovima je također izmjerena i boja. Metodom poželjnosti odabrana su dva kruha na kojima je provedena senzorska analiza te im je izrađena deklaracija na temelju provedenih analiza kemijskog sastava kruha.

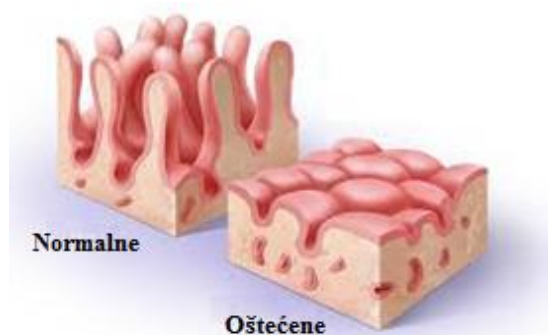
2. TEORIJSKI DIO

2.1. CELIJAKIJA I NECELIJAKIJSKA GLUTENSKA OSJETLJIVOST

Sve veći interes javlja se za socijalnu dimenziju celijakije, s obzirom da je teret te bolesti nesumnjivo viši nego što se prije mislilo. Iako se od celijakije može oboljeti u bilo kojoj dobi, uključujući i starije osobe, tipični slučajevi se često manifestiraju u ranom djetinjstvu (American Gastroenterological Association, 2001). U prošlosti se celijakija smatrala rijetkim poremećajem koji uglavnom pogađa djecu europskog podrijetla. Ova ideja je još uvijek raširena, tako da mnoge europske zemlje nastavljaju uključivati celijakiju na listu rijetkih poremećaja zaštićenih posebnim propisima od strane zdravstvenog sustava. S druge strane, velik broj studija nedavno je pokazao da je celijakija jedna od najčešćih cjeloživotnih poremećaja koja se javlja kod ljudi u mnogim dijelovima svijeta (Catassi i sur., 1996; Catassi, 2005).

Celijakija je kronična intestinalna, imunološki posredovana enteropatija koja se javlja kod izlaganja prehrambenom glutenu i srodnim prolaminima u genetski predisponiranih pojedinaca, karakterizirana specifičnim antitijelima protiv tkivne transglutaminaze 2 i endomizija. Alergija na pšenicu je nepovoljna imunološka reakcija na proteine pšenice. U patogenezi alergije na pšenicu, pšenično specifična IgE antitijela igraju glavnu ulogu, međutim ne postoji IgE posredovana alergija na pšenicu i taj oblik je teško razlikovati od necelijakijske glutenske osjetljivosti. Necelijakijska glutenska osjetljivost izvorno je prvi puta opisana u 1980-ima te je okarakterizirana kao crijevni i izvan-crijevni simptom povezan s unosom hrane koja sadrži gluten, no kod osoba koje ne boluju od celijakije ili alergija na pšenicu. Mnogi aspekti necelijakijske glutenske ovisnosti, epidemiologije, patofiziologije, klinički spektri i samo liječenje su još uvijek nejasni. S obzirom na nedavni rast tržišta hrane „bez glutena“ širom svijeta, djelomično od strane pojedinaca kojima je medicinski nužno poduzimanje prehrane bez glutena, javlja se i potreba za odjeljivanjem pšenice od pljeve. 2011. godine u Londonu se po prvi puta sastao panel stručnjaka kako bi se postigao konsenzus o novoj nomenklaturi i klasifikaciji poremećaja vezanih za gluten. Postoji općeniti sporazum da je pojam „poremećaji povezani s glutenom“ zajednički pojam koji se koristi za opisivanje svih stanja koja su povezana s ingestijom hrane koja sadrži gluten (Catassi i sur., 2013).

Gluten je mješavina proteina (Catassi i Fasano, 2008), široko je rasprostranjen u prehrambenim izvorima ugljikohidrata, uključujući pšenicu, raž i ječam (Packer i sur., 2000), a koji su kod većine populacije u svijetu osnovne namirnice. Proteini glutena imaju nekoliko jedinstvenih značajki koje imaju utjecaj na imunološka svojstva. Izuzetno su bogati aminokiselinama prolinom i glutaminom. Visoki sadržaj prolina uzrokuje visoku otpornost na proteolitičku degradaciju glutena unutar gastrointestinalnog trakta, dok visoki sadržaj glutamina čini gluten dobrim supstratom za tkivnu transglutaminazu (Catassi i Fasano, 2008). Genetski predisponirani pojedinci koji konzumiraju proteine žitarica razvijaju upalnu enteropatiju koju karakterizira proliferacija intraepitelnih limfocita i djelomična ili potpuna atrofija crijevnih resica. Upalni odgovor je induciran umrežavanjem peptida glutena pomoću tkivne transglutaminaze, koja je lokalizirana u vezivnom tkivu koje se nalazi ispod epitelnih stanica tankog crijeva. Nastala upala popraćena je razvojem cirkuliranja antitijela do transglutaminaze i do endomizija (Freemark i Levitsky, 2006).



Slika 1. Crijevne resice kod opće populacije (normalne) i kod oboljelih od celijakije (oštećene) (Anonymus, 2015)

Smatra se da celijakija danas sliči multisistemskom imunološkom poremećaju umjesto bolesti koja je ograničena samo na gastrointestinalni trakt. Prvi točan klinički opis celijakije opisao je široke ravne crijevne resice i guste kronične limfoepitelne upalne stanice koje se infiltriraju u crijevnoj mukozi pacijenta (slika 1). Kasnija je progresija abnormalnosti crijevne sluznice koja se javlja kao odgovor na gluten opisana kod pacijenata kao celijakija. Klinički simptomi veoma se razlikuju te ovise o dobi pacijenata, trajanju i stupnju izloženosti glutenu (Saturni i sur., 2010). Stanje se može manifestirati neočekivanim rasponom kliničkih dijagnoza i spektrom simptoma koji potencijalno utječu na bilo koji organ ili sustav u tijelu (Catassi i Fasano, 2008). Klasični način

manifestacije je malapsorpcijski sindrom koji rezultira nedostatkom makro- i mikronutrijenata (Thimmaiah i sur., 2014). Upala površine crijevnih resica uzrokuje malapsorpciju hrane, folata, vitamina topivih u mastima i željeza. Kod djece klasični simptomi celijakije su dijareja, prestanak rasta, gubitak mišića, hipotonija, bljedilo, edemi, anemija i u nekim slučajevima dijareja u epizodama, steatoreja, gubitak na težini, osteoporoza te je moguć rizik za malignacijama gastrointestinalnog sustava. Međutim mnoga djeca i odrasli imaju neklasične oblike bolesti, tzv. tihi celijakiju koja se odnosi na djelomičnu ili kompletnu atrofiju crijevnih resica kod seropozitivnih pacijenata koji nemaju gastrointestinalne ili izvanintestinalne komplikacije (Freemark i Levitsky, 2006). Budući da se često javlja atipična ili čak šutljiva celijakija, na kliničkoj osnovi, mnogi slučajevi ostaju nedijagnosticirani što dovodi do rizika dugoročnih komplikacija, kao što je osteoporoza ili tumor (Catassi i Fasano, 2008).

Prehrana bez glutena je jedini tretman koji je trenutno dostupan za ovaj poremećaj. Kod pojedinaca koji boluju od celijakije često su prisutni višestruki prehrambeni nedostaci prilikom dijagnoze te oni zahtijevaju specifičnu terapiju. Postoji više nutritivnih posljedica prilikom konzumiranja hrane bez glutena koje je potrebno proučiti i upravljati njima na odgovarajući način. Važno je da su nadležne osobe koje brinu o osobama koje su na prehrani bez glutena svjesne potencijalnih problema kako bi mogli pružiti sveobuhvatnu skrb za tu rastuću populaciju pacijenata. Manifestiranje celijakije se promjenilo u posljednja dva desetljeća na sve više pacijenata koji boluju od celijakije bez ikakvih simptoma malapsorpcije. Očekuje se da će se trenutna rasprostranjenost prekomjerne težine i pretilih bolesnika celijakije povećati proporcionalno s povećanjem stope pretilih općenito u populaciji. Uz povećanje svijesti o bolesti, očekuje se veća raznolikost i veća dostupnost proizvoda bez glutena, od kojih se mnogi mogu obogatiti vitaminima, čime bi se nadomijestili nedostaci primijećeni kod oboljelih (Thimmaiah i sur., 2014). Obzirom da je prehrana bez glutena trenutno jedina terapija za osobe koje boluju od celijakije, veoma je važno uzeti u obzir učinak spomenute prehrane na unos hranjivih tvari i nutritivni status pacijenata koji se pridržavaju ove ograničene prehrane. Zabrinutost je nastala zbog dugoročnih neadekvatnih prehrambenih navika i prehrambenih izbora pojedinaca jer mnoge studije ukazuju na neuravnoteženi unos ugljikohidrata, proteina i masti, kao i nekih esencijalnih nutrijenta, pri čemu su prehrambena vlakna jedna od važnijih nutrijenata koja se ne konzumiraju u dovoljnim količinama (Hager i sur., 2011).

2.1.1 Celijakija i drugi autoimuni poremećaji

Autoimuni poremećaji kao što su autoimuni tireoditis, dijabetes tipa 1, Addisonova bolest, autoimuna bolest jetre i Sjogrenov sindrom javljaju se mnogo češće kod pojedinaca koji boluju od celijakije nego kod opće populacije. Klinička važnost autoimuniteta kod celijakije je trostruka: prvo, on dodatno pogoršava sam klinički tijek celijakije; drugo, pacijenti mogu imati samo simptome neke druge autoimune bolesti što može pogodovati dijagnozi početne celijakije; i treće, povlačenje glutena iz prehrane moglo bi poboljšati kontrolu nad nekim povezanim autoimunim poremećajima (Martucci i sur., 2002). Povezanost između celijakije i dijabetesa tipa 1 prepoznate su prije više od 30 godina, osobito od strane pedijatar. Rasprostranjenost celijakije kod odraslih i djece zajedno s dijabetesom tipa 1 varira u različitim zemljopisnim populacijama (Marchese i sur., 2012). Jedna četvrtina populacije koja boluje od celijakije zajedno sa dijabeteseom tipa 1 potpuno je asimptotska, a ostatak pokazuje gastrointestinalne simptome poput dijareje, anoreksije, konstipacije, povraćanja, abdominalne distenzije, boli i pothranjenosti ili izvanintestinalne simptome. Najčešći tragovi u izvanintestinalnim simptomima su spori rast i anemija (nedostatak željeza) koja je prisutna u otprilike 50 % slučajeva, međutim česte pojave su i umor, pubertetsko kašnjenje i nedostatak vitamina, posebno u djece (Poulain i sur., 2007).

Dijabetes mellitus je kronični metabolički poremećaj karakteriziran visokom razinom glukoze u krvi zbog nedostatnog izlučivanja inzulina ili radi inzulinske osjetljivosti. Smatran je rastućim, ozbiljnim, skupim i potencijalno javnim problemom. Procjenjuje se da će se broj ljudi oboljelih od dijabetesa povećati sa 117 milijuna u 2000. godini na 366 milijuna u 2030. godini (Adams i sur., 2011). Trenutačne opcije terapije uključuju prilagodbu načina života uz dijetu i tjelovježbu, oralne hipoglikemijske agense – faktore koji povećavaju aktivnost β -stanica, inhibitore α -glukozidaze na razini tankog crijeva, faktore koji povećavaju osjetljivost perifernog inzulina i liječenje inzulinom. Međutim, lijekovi koji se koriste za liječenje ovog poremećaja su skupi, imaju razne nuspojave ili kontraindikacije. Terapija prehranom, osobito kod korištenja tradicionalne hrane i lijekova koji potječu iz prirodnih izvora, je glavni način upravljanja dijabetesom tip II. Komponente iz biljaka iz prirodnih izvora su manje toksične te imaju manje nuspojava od sintetskih sredstava (Jin i sur., 2013).

Dijabetes tipa 1 još je jedna imunološki posredovana bolest. Djeca s ovom vrstom bolesti imaju povećan rizik od obolijevanja od celijakije. Prema studijima to povećanje rizika predstavlja

povećanje od 5 do 10 puta za celijakijsku bolest i može se djelomično objasniti zajedničkim HLA sustavom (sustav glavnih antigena tkivne snošljivosti u ljudi, engl. *Human Leukocyte Antigens*), kod jedne i druge bolesti. Drugi znakovi koji ukazuju na celijakiju kod pacijenata koji boluju od dijabetesa tipa 1 su smanjeni BMI (indeks tjelesne mase, engl. *Body Mass Index*), smanjena masa kostiju, krvarenje radi nedostatka vitamina K i povećane razine transaminaza (Marchese i sur., 2012).

2.2. OZNAČAVANJE HRANE BEZ GLUTENA

Širom svijeta javljaju se problemi vezani za označavanje hrane bez glutena, s obzirom da nije definirana točna količina toksičnih prolamina koju pojedinac koji boluje od celijakije može konzumirati bez oštećenja sluznice tankog crijeva (Thompson, 2000). Iako je potpuno isključivanje hrane i sastojaka koji sadrže gluten u prehrambenim proizvodima vrlo važno kako bi se izbjegle zdravstvene opasnosti za pojedince, to je u prošlosti bilo veoma teško ostvariti zbog neadekvatnih propisa za označavanje složenih sastojaka, naziva klase i upotrebe samog glutena iz pšenice iz tehnoloških razloga. Ako je složenog sastojka bilo manje od 25 % unutar nekog prehrambenog proizvoda, on je bio izuzet iz označavanja. Sastojci poput „škroba“ ili „biljne bjelancevine“ mogli su se koristiti bez davanja informacija o izvoru navedenih tvari. Iako u europskim zemljama nije bila dopuštena uporaba pšeničnog glutena kao prehrambenog aditiva, sastojci koji sadrže gluten pšenice sami po sebi koristili su se bez njihovog navođenja u nekoliko vrsta prehrambenih proizvoda gdje potrošač nije očekivao prisutnost glutena. Sve to dovelo je do potrebe za hitnim poboljšanjem zakonodavstva o označavanju diljem svijeta (Arendt i sur., 2008).

Na zahtjev austrijskog celijakijskog društva, austrijska je vlada otvorila temu o nedovoljnom označavanju sastojaka koji sadrže gluten, Komisiji Codex Alimentarius u srpnju 1991. godine. Komisija je odlučila istražiti problem te je odredila radnu skupinu potencijalnih alergena za daljnju raspravu na sljedećoj sjednici. Europska asocijacija oboljelih od celijakije dobila je status promatrača od strane Codexa te je doprinjela razvoju radnog dokumenta. Radni dokument sadržavao je prijedlog da bi žitarice koje sadrže gluten i njihovi proizvodi uvijek trebali biti deklarirani isto kao i druge tvari ili sastojci koji uzrokuju intolerancije ili alergije. S obzirom da je radni dokument obuhvaćao intolerancije i alergije, nazvali su ga „popisom preosjetljivosti“ (engl. *list of hypersenzibility*). U odboru za označavanje hrane raspravljalo se o poboljšanju generalnog

standarda o označavanju pretpakirane hrane od 1993. do 1998. godine, a usvojen je od strane Codex Alimentarius-a u srpnju 1999. godine. Izmijenjeno je:

1. Pravilo od 25 % za složene sastojke ukinuto je za tvari koje se spominju u popisu preosjetljivosti, a za sve ostale namirnice pravilo je smanjeno na 5 %. Na popisu preosjetljivosti našli su se: žitarice koje sadrže gluten (pšenica, raž, ječam, zob, njihovi hibridi i proizvodi od navedenih žitarica), rakovi i proizvodi od rakova, jaja i proizvodi od jaja, ribe i riblji proizvodi, kikiriki, soja i proizvodi od njih, mlijeko i mliječni proizvodi – uključujući laktozu, orašasti plodovi, sulfid u koncentracijama od 10 mg/kg ili više.
2. Navođenje tvari kao „škrob“ ili „biljni proteini“ ne mogu se više koristiti za tvari koje su navedene u popisu za preosjetljivost.
3. Ako se bilo koja tvar s popisa preosjetljivosti koristi kao prehrambeni aditiv on mora biti označen bez izuzetka (Arendt i sur., 2008).

Na zahtjev instituta za sigurnost hrane u Irskoj, od EFSA-e je zatraženo znanstveno mišljenje o procjeni hrane i sastojaka hrane koji uzrokuju alergije u svrhu označavanja. Odlučeno je ažurirati prethodna mišljenja o sastojcima hrane i tvarima s poznatim potencijalom za alergije koji su navedeni u Prilogu IIIa Direktive 2003/89. Tako je EFSA pokrenula projekt provjere svih objavljenih podataka o prevalenciji alergije na hranu u Europi te prikupljanje podataka o prevalenciji alergije u općoj populaciji.

EFSA-ina uloga je pružiti upraviteljima rizika (Europski parlament, Europska Komisija i države članice) znanstvenu i tehničku podršku kako bi bili informirani o odlukama upravljanja s obzirom na usvajanje i provedbu zakonodavstva Europske Unije vezano uz označavanje prehrambenih proizvoda. To uključuje i informacije koje se pružaju potrošačima o hrani koja uzrokuje alergije i sastojcima hrane koji mogu predstavljati zdravstveni rizik za pojedince. Trenutni zakon Europske Unije je Uredba 1169/2011 u kojoj se u Dodatku IIa navodi popis tvari koje mogu uzrokovati alergije ili intolerancije kod osjetljivih pojedinaca nakon oralne konzumacije i koje podliježu obaveznom označavanju. Oznaka hrane koja uzrokuje alergiju i sastojci koji su navedeni u Prilogu II obavezna je ako su oni: namjerno dodani u proizvodnju prehrambenih proizvoda i još su uvijek prisutni u konačnom proizvodu koji se isporučuje potrošaču.

Zakon o hrani u Europskoj uniji propisuje da se na ambalaži moraju navoditi sastojci hrane koji uzrokuju alergije kako bi se osjetljivi potrošači zaštitili od nehotičnog konzumiranja. Regulatorne vlasti diljem svijeta troše znatne resurse za uzorkovanje i testiranje prehrambenih proizvoda kako bi se osigurala cjelovitost označavanja alergena u hrani. Međutim, učinkovito upravljanje rizikom otežano je nedostatkom informacija o kliničkim utvrđenim granicama koji se primjenjuju na razne alergene, kao i varijacijama u procjeni rizika i strategijama upravljanja. Mišljenje EFSA-inog Znanstvenog vijeća o prehrambenim proizvodima, prehrani i alergijama iz 2004. godine koje se odnosi na procjenu alergeni namirnica za označavanje je značajan znanstveni izvještaj koji daje detalje o glavnoj hrani i sastojcima hrane koji uzrokuju alergije ili intolerancije među potrošačima u EU (EFSA, 2014).

98 % svih vlada diljem svijeta su članovi Codex Alimentarius Komisije. Jedan od zadataka Komisije je usvajanje standarda Codexa koji daju smjernice vladama za zakonodavstvo o hrani, a koje su obavezne za prehrambene industrije prilikom globalne trgovine. Gotovo sve vlade u svijetu, svrstale su Codex standarde u nacionalno zakonodavstvo (Arendt i sur., 2008). Među članicama Komisije vodi se velika rasprava o prihvaćenoj definiciji što predstavlja termin „bez glutena“. Proizvodi s tom oznakom u Kanadi se susreću sa standardom: manje od 20 mg glutena po 1 kg, dok se druge zemlje vode standardom 200 mg po 1 kg. Sadašnji standard Codex Alimentarius-a za „hranu bez glutena“, usvojen je od strane Codex Alimentarius Komisije 1976. godine te izmijenjen 1983. godine. U tom dokumentu gluten je definiran kao skladišni protein kod pšenice, pšenoraži, raži, ječma ili zobu, a definicija „bez glutena“ razmatrana je tijekom devedesetih godina (Codex Alimentarius Commission, 2003).

Međunarodna oznaka bezgluteskih proizvoda je prekriveni klas žita prikazan na slici 2 (HGK, 2016). Simbol prekrivenog klase žita registrirani je zaštitni znak koji potrošačima jamči kvalitetu i sigurnost proizvoda, a proizvođačima osigurava konkretnu komercijalnu prednost na tržištu s obzirom da se simbol može koristiti samo uz licencu. Korištenje zaštitnog simbola nadgledano je od strane Europskog udruženja za celijakiju (AOECS) i njezinih članica.



Slika 2. Oznaka za bezglutenski proizvod (Hrvatska gospodarska komora, 2016)

Hrana bez glutena trenutno je u Hrvatskoj regulirana Uredbom (EU) 609/2013 od 20. srpnja 2016. godine te se od tog datuma primjenjuje Provedbena Uredba Komisije (EU) 828/2014. o zahtjevima za informiranje potrošača o odsutnosti ili smanjenoj prisutnosti glutena u hrani. Uredbom (EU) 1169/2011 propisana je obveza pružanja informacija potrošačima o svim sastojcima koji bi mogli izazivati alergije ili intolerancije, a među njima su i žitarice koje sadrže gluten. Za tumačenje Uredbe (EU) 609/2013 nadležno je Ministarstvo zdravlja, dok je za Uredbu (EU) 1169/2011 i Provedbenu Uredbu (EU) 828/2014 nadležno Ministarstvo poljoprivrede. Izjavu „bez glutena” dopušteno je navesti samo ako je sadržaj glutena u hrani kao gotovom proizvodu manji od 20 mg/kg (Hrvatska Gospodarska Komora, 2016). Od 20. srpnja 2016. godine proizvodi bez glutena ne pripadaju više kategoriji hrane za posebne prehrambene potrebe, stoga su regulirani Uredbom (EU) br. 1169/2011 Europskog Parlamenta i Vijeća o informiranju potrošača o hrani prilikom stavljanja na tržište.

Novi oblici označavanja hrane i posebno označavanje sastojaka u vidnom polju (engl. „*front-of-pack*“, *FOP*) smatraju se sredstvima za poboljšanje prehrane stanovništva. 2006. godine Agencija za prehrambene proizvode u Velikoj Britaniji preporučila je proizvođačima hrane u Velikoj Britaniji naljepnice na prednjoj strani pakiranja proizvoda u različitim kategorijama. Takav oblik označavanja sastoji se od četiri zasebna svjetla koja označavaju razinu masti, zasićenih masti, šećera i soli u proizvodu. „Crveno svjetlo“ označava visoku razinu navedenih hranjivih sastojaka, „jantarno svjetlo“ srednju razinu i „zeleno svjetlo“ označava nisku razinu

sastojaka. Ključni cilj ovakvog označavanja je pomoći ljudima kod pravilnijeg odabira hrane (Sacks i sur., 2009).

2.3. BEZGLUTENSKI KRUHOVI

Bezglutenske alternative za hranu poput kruha i dalje predstavljaju veliki izazov u proizvodnji. Pšenični gluten je imperativ za visoku kvalitetu kruha jer osigurava viskoelastičnu strukturu i zadovoljavajući okus u ustima. Proizvodi od žitarica bez glutena sadrže manjak proteina, a osim toga žitarice imaju nisku biološku vrijednost s obzirom da su nedostatne u lizinu, treoninu i triptofanu. Taj manjak se može znatno poboljšati nadopunjavanjem proteina izoliranih iz nepšeničnih izvora (Marco i Rosell, 2008). Još od 1987. godine poznato je da bezglutenski kruhovi imaju značajno veći glikemijski indeks od tradicionalnog bijelog kruha. Međutim u posljednjih nekoliko godina prehrambeni sastav bezglutenskih kruhova uvelike je poboljšán te se nastoji smanjiti vrijednost glikemijskog indeksa takvih kruhova (Scazzini i sur., 2015).

Gluten je glavni protein za oblikovanje strukture kruha prisutan u pšeničnom brašnu, te igra važnu ulogu u proizvodnji bijelog kruha osiguravajući mu viskoelastično tijesto, dobra svojstva zadržavanja plina i dobru strukturu mnogih pečenih proizvoda (Gallagher i sur., 2004; Moore i sur., 2004). Trenutno, mnogi pekarski proizvodi bez glutena koji su dostupni na tržištu su slabije kvalitete i siromašni na okusu (Arendt i sur., 2008). Ti problemi predstavljaju glavne tehnološke izazove i za prehrambenog tehnologa i za pekara, te su doveli do traženja alternativnih rješenja za proizvodnju proizvoda bez glutena. Kruh bez glutena zahtijeva dodatak polimernih tvari koje će oponašati viskoelastična svojstva glutena u tijestu (Toufeii i sur., 1994). Proizvodnja kruha bez glutena obično uključuje ugradnju škroba, sastojaka na bazi proteina kao što su mliječni proteini i hidrokoloida u bezglutensko bazno brašno, koje je najčešće rižino. Ovi sastojci u kombinaciji mogu oponašati viskoznoelastična svojstva glutena što rezultira poboljšanom teksturom, okusom, općenitom prihvatljivosti i rokom trajanja ovih proizvoda. Osim velikog broja pacijenata koji boluju od celijakije, osobe s dermatitisom herpetiformis također moraju isključiti gluten iz prehrane. Pojedinci kojima se javlja IgE posredovana alergijska reakcija uzrokovana hranom na bazi žitarica također trebaju sigurniji odabir hrane (Arendt i sur., 2008).

2.3.1. Riža i rižino brašno u proizvodnji bezglutenskog kruha

Riža (*Oryza sativa* L.) je, uz pšenicu, najvažnija žitarica u prehrani ljudi. U svijetu se rižom godišnje zasije preko 150 milijuna hektara zemlje (FAOSTAT, 2013). Zrno riže je bogato mineralnim tvarima (osobito fosforom i kalijem), vitaminima B skupine i vitaminom E. Sadrži makromolekule kao što su Mg, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn. Riža ne sadrži gluten te se rižino brašno najčešće koristi u proizvodnji bezglutenskih proizvoda zbog hipoalergijskih svojstava, blagog okusa i bijele boje (Hager, 2012; Rosell i sur., 2007). Međutim, rižino brašno sadrži male količine proteina, te nema elastično-plastičnih svojstava karakterističnih za gluten iz pšenice, koja su ključna za izradu kruha (Kadan i sur., 2001). Zbog toga mu se moraju dodati razne polimerne tvari, kao npr. hidrokoloidi, koji oponašaju viskoelastična svojstva glutena čime se osigurava struktura i zadržavanje plina nastalog tijekom fermentacije (Toufeili i sur., 1994).

2.4. BUČINA POGAČA, PROSO I HELJDA

2.4.1. Bučina pogača

U zadnjih nekoliko desetljeća, znanstvenici su se usredotočili na znanstvenu procjenu nutritivnih komponenti bundeve, koja je često korištena kao funkcionalna hrana (Zhou i sur., 2007). Poljoprivredna, prehrambena, farmaceutska industrija i industrija hrane za životinje u posljednjih nekoliko godina povećavaju svoj interes za bundevu i derivate bundeve radi nutritivne i zdravstvene vrijednosti proteina, ulja i polisaharida (Sojak i Głowacki, 2010). Bundeve pripada rodu *Cucurbita* i porodici *Cucurbitaceae* (Saeleaw i Schleining, 2011). Sastoji se od 5 domaćih vrsta: *Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret, *C. pepo* L. (slika 3), *C. maxima* Duchesne, *C. mixta* pangalo, i *C. micifolia*. Široko je kultivirana u umjerenom i subtropskom pojasu zemlje za jestive i terapijske svrhe. Tradicionalno je korištena kao povrće u mnogim zemljama (Andrade-Cetto i Heinrich, 2005). *Cucurbita moschata* Duch, iz porodice *Cucurbitaceae*, spada u popularnu, tradicionalnu hranu s povoljnim nutritivnim svojstvima te ulogom prevencije dijabetesa (Jin i sur., 2013). Istraživanja su pokazala da ekstrakt sirove bundeve značajno smanjuje koncentraciju glukoze u krvi kod miševa s dijabetesom. Zaključeno je da je glavna funkcija ekstrakta sirove bundeve nije stimulacija beta stanica u Langerhansovim otočićima za povećano izlučivanje inzulina već popravljivanje oštećenja na otočićima ili oponašanje inzulina senzibilizatora radi pojačanog inzulinskog djelovanja poboljšanjem osjetljivosti inzulina ciljanih tkiva kao jetra,

mišići i masna tkiva. Polisaharidi bundeve tu mogu imati važnu ulogu u oporavku funkcije jetre i upotrebe glukoze (Jin i sur., 2013).



Slika 3. Cucurbita pepo – Buča (Anonymus)

Plodovi bundeve sastoje se uglavnom od pulpe i sjemenki. Mnoge nutritivne komponente bundeve kao polisaharidi, karotenoidi, mineralne tvari, amino kiseline, aktivni proteini su sastavni dio pulpe. Sjemenke bundeve (*Cucurbita pepo* L.) koriste se direktno za ljudsku konzumaciju kao snack proizvod nakon prženja (Al-Khalifa, 1996). Sjemenke su prepoznate kao prehrambeno visoko vrijedna namirnica jer predstavljaju odličan izvor proteina, u rasponu od 25 do 37 % i ulja (37-45 %) za ljudsku konzumaciju (Milovanović i sur, 2014). Ukupna količina ugljikohidrata varira od 10 % do 20 %, dok sadrže oko 5 % vode. Dodatno, sjemenke sadrže znatnu količinu mineralnih tvari kao što su magnezij, mangan i kalcij te manji udio bakra. Prisutnost vitamina B, D i K, i značajno visok udio vitamina A i C je također primjećen (Longe i sur, 1983).

Osim što se konzumira samostalno, sjeme se ponekad obrađuje u brašno ili se fermentira i koristi kao proteinski dodatak u proizvodima iz brašna. Naime proteini sjemenki bundeve su nutritivno visokovrijedni i sadrže uravnoteženi sastav aminokiselina, s visokim udjelom lizina u usporedbi sa proteinima pšenice. U studiji Giammi i sur. (2003) dokazano je da se iz pšeničnog brašna nadopunjenog s 5-10 % odmašćenog bučinog brašna može proizvesti kruh s povećanim udjelom proteina, kalcijem, natrijem, kalijem i fosforom te je stoga takav kruh nutritivno superiorniji od kruha proizvedenog samo od pšeničnog brašna (Giammi i sur., 2003). Osim toga,

brašno ima dobar potencijal za upotrebu u pekarskoj industriji radi svoje velike sposobnosti apsorpcije vode (Giammi i Isichei, 1999). Zbog svega navedenog treba poticati uzgoj i korištenje ovog autohtonog usjeva za proizvodnju visoko proteinskog kruha.

2.4.2. Proso

Proso je uz pšenicu i ječam jedna od najstarijih žitarica koja se koristila za ljudsku prehranu (slika 4) (Singh i sur., 2012). Osim za ljudsku potrošnju, proso kao vrlo hranjiva žitarica koristi se i kao sjeme za ptice te za proizvodnju etanola (Habiyaemye i sur, 2016). Ima vrlo kratku vegetaciju koja traje oko 10 do 11 tjedana. Usjev raste u širokom rasponu nadmorskih visina.

Proso je bila jedna od glavnih žitarica Slavena, no njezina je važnost postupno smanjena, osobito krajem 18. i 19. stoljeća. To je bilo potaknuto razvojem uzgoja krumpira i uvozom riže, ali i većom potrošnjom i popularnošću kruha i ostalih pekarskih proizvoda. Danas se proso koristi u ljudskoj prehrani i to uglavnom u zemljama u razvoju. U Europi, zrno se obično koristi kao hrana za kućne ljubimce. Ponovljeni interes za eksploataciju prosa za ljudsku prehranu razvio se zbog zdravstvenih razloga, posebice zbog činjenice da se radi o žitarici koja ne sadrži gluten. U Češkoj se popularnost prosa povećala razvojem ekološke poljoprivrede (Kalinova i Moudry, 2006).



Slika 4. Proso (Anonymus)

Proso sadrži značajne razine fenolnih spojeva koji imaju povoljan ujecaj na ljudsko zdravlje, a čije su vrijednosti mnogo više nego kod pšenice. Kim i suradnici (2010) su otkrili da proso sadrži manje količine fenolnih spojeva nego sirak, no ipak veće od pšenice. Dodatne zdravstvene prednosti prosa su svojstvo snižavanja kolesterola. Van Rensburg (1981) i Chen i suradnici (1993) su izvijestili da populacije koje konzumiraju sirak i proso imaju niže incidencije raka jednaka u usporedbi s onima koji konzumiraju pšenicu ili kukuruz. Uz sve navedene atribute proso ima ogroman potencijal za proizvodnju hrane, posebno za proizvodnju kruha (Schoenlechner i sur., 2013).

Uključivanje prosa u prehrambene proizvode rezultira povišenim razinama proteina, lipida, fenola i dijetalnih vlakana, a proizvodi temeljeni na rafiniranom prosu imali su niži glikemijski indeks (Mcsweeney, 2014). Konzumacija hrane na bazi prosa povezana je s značajnim smanjenjem postprandijalne glukoze u krvi, poboljšanom glikemijskom kontrolom, značajnim smanjenjem ukupnog LDL kolesterola i poboljšanjem lipidnog profila (Mcsweeney i sur., 2017).

2.4.3. Heljda

Heljda (*Fagopyrum esculentum*) je prepoznata kao važna funkcionalna namirnica u nekim državama kao što su Kina, Japan, Tajvan, gdje je najpopularniji proizvod tjestenina od heljde. Za razliku od ostalih žitarica pripada porodici *Polygonaceae*, no kao pseudožitarica se može koristiti kao zamjena za rižu ili krumpir kod redovitih obroka, a pogodna je i za prehranu oboljelih od celijakije (slika 5).



Slika 5. Heljda (Anonymus, 2017)

Pokazano je da fenolni spojevi iz heljde posjeduju visoku antioksidativnu aktivnost. Četiri flavanol glikozida uključujući rutin, kvercetin, kaemferol-3-rutinozoid i u tragovima flavanol triglikozid pronađeni su u metanolnom ekstraktu heljde. Usporedbom sa većinom voća, povrća i žitarica, vidljivo je da heljda sadrži veće količine rutina, kvercetin-3-rutinozida, a koji posjeduje antioksidativno, antiupalno i antikancerogeno svojstvo te može smanjiti krhkost krvnih žila povezanih sa hemoragijskim bolestima i hipertenzijom kod ljudi (Lin i sur., 2009). Heljda je vrijedan izvor proteina, vlakana i mineralnih tvari kao što su željezo, mangan i selen. Neke komponente heljde, kao što su proteini, posjeduju vrijednu sposobnost snižavanja kolesterola i izuzetna svojstva za dobrobit zdravlja (Christa i sur., 2008).

Također je utvrđeno da heljda spada u prebiotičku hranu s obzirom da utječe na povećanje bakterija mliječne kiseline u crijevima štakora. Kim i suradnici (2003) izvijestili su da se ekstrakt zrna heljde može koristiti kod liječenja alergijskih upala. Korištena je za smanjenje razine glukoze u štakora zbog visokog sadržaja d-kiro-inozitola, komponente koja je medijator inzulina. Heljda koja služi kao dodatak u hrani, može pružiti korisne učinke na zdravlje, a istovremeno spriječiti hranu od oksidacije tijekom obrade. Kod zamjene 15 % pšeničnog brašna sa heljdinim brašnom u recepturi pokazalo se da nema utjecaj na specifični volumen kruha, no kruh je sadržavao više funkcionalnih komponenti rutina i kvercetina te se povećala antioksidativna aktivnost (Lin i sur., 2009).

Zbog svege navedenog, sve tri spomenute namirnice prikladne su za proizvodnju prehrambenog proizvoda koji će biti pogodan za oboljele od jednih od rastućih bolesti današnjice, celijakije i dijabetesa. Trenutno tržište ne nudi velik izbor proizvoda niskog glikemijskog indeksa koji bi bio pogodan za pacijente oboljele od obje bolesti te potražnja za takvim proizvodima kontinuirano raste. Razvoj prehrambenih proizvoda je tržišno utemeljen proces na koji utječu aktualne potrebe potrošača, a pri razvoju proizvoda se prehrambena industrija obvezuje na brzo reagiranje na promjene na tržištu, pri čemu može koristiti neki od velikog broja eksperimentalnih projekata za optimizaciju novih prehrambenih proizvoda (Arteaga i sur., 1994).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Sirovine

U ovom radu korišteno je heljdino brašno proizvođača „Naše klasje“, bučina pogača nabavljena u suradnji s uljarom „Poljoposavec“ iz Dunjkovca, integralno rižino brašno proizvođača „Primavita“ i proseno brašno proizvođača Werz. Kemijski sastav sirovina prikazan je u tablici 1, pri čemu je u ovom diplomskom radu određen kemijski sastav heljdinog brašna, ukupna vlakna heljdinog brašna i prosenog brašna te kemijski sastav kruha ispečenog kao što je opisano u poglavlju 3.2.2. Za pečenja, osim spomenutih sirovina, korištena je i vodovodna voda, instant suhi pekarski kvasac „di-go“ (Kvasac, Hrvatska), suhi bjelanjak u prahu (Elcon, Hrvatska), hidrokoloidi (guar-guma (Ireks aroma, Hrvatska) i HPMC (Dow Bomlitz, Njemačka)), kuhinjska sol (Solana Pag, Hrvatska) i konzumni šećer (Viro, Hrvatska).

3.1.2. Reagensi

Određivanje bjelančevina po Kjeldahlu

- 40 % - tna otopina natrijevog hidroksida (NaOH) (Lachner, Češka)
- Borna kiselina (H_3BO_3) (Poch, Poljska)
- Kjeldahl Catalyst (9 % in $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) (Merck, Njemačka)
- Klorovodična kiselina (HCl) (Carlo Erba, Francuska)
- Koncentrirana sumporna kiselina (H_2SO_4) – 96 % (Carlo Erba, Francuska)

Određivanje šećera po Luff-Shoorlu

- 0,1 M otopina natrijeva tiosulfata ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) (Gram-Mol, Hrvatska)
- 0,1 mol L^{-1} klorovodična kiselina (HCl) (Carlo Erba, Francuska)
- 0,1 mol L^{-1} otopina natrijevog hidroksida (NaOH) (Lachner, Češka)
- 1 mol L^{-1} otopina natrijevog hidroksida (NaOH) (Lachner, Češka)
- 1 %-tna otopina fenolftaleina u etanolu (Gram-Mol, Hrvatska)

- 2 %-tna otopina škroba (Merck, Njemačka)
- 30 %-tna otopina kalij jodida (Carlo Erba, Francuska)
- 6 mol L⁻¹ otopina sumporne kiseline (H₂SO₄) (Carlo Erba, Francuska)
- Koncentrirana klorovodična kiselina (HCl) (Carlo Erba, Francuska)
- Otopina kompleksa bakra po Luff-Schoorlu (Luffov reagens)
 - Otopina natrijeva karbonata (Gram-mol, Hrvatska) (143 g bezvodnog natrijevog karbonata (Na₂CO₃) otopljeno u 300-400 mL destilirane vode), otopina limunske kiseline (Gram-Mol, Hrvatska) (50 g limunske kiseline (C₆H₈O₇ x H₂O) otopljeno u 50 ml destilirane vode) i otopina bakrenog sulfata (Gram-Mol, Hrvatska) (16 g bezvodnog bakrenog sulfata (CuSO₄) otopljeno u 100 ml destilirane vode), dopunjeno do 1000 mL destiliranom vodom
- Reagens za bistrenje po Carrezu
 - Carez I: u tikvicu od 100 mL stavi se 21,95 g cinkova acetata (Fluka, Švicarska) (ZN(CH₃COO)₂ x 2H₂O) i 3 g ledene (glacijalne) octene kiseline (Macron, USA) i do oznake se nadopuni destiliranom vodom
 - Carez II: u tikvicu od 100 mL stavi se 10,6 g kalijeva heksacijanoferata (Kemika, Hrvatska) (K₄Fe(CN)₆ x 3H₂O) te se do oznake nadopuni destiliranom vodom

Određivanje masti po Soxletu

- Medicinski benzen (Petroleter) (Carlo Erba, Francuska)

Određivanje vlakana

- Aceton (Gram-mol, Hrvatska)
- Celite (Sigma Aldrich, SAD)
- Destilirana voda
- Enzimi: α-Amilaza, Proteaza, Amiloglukozidaza (Megazyme International Irska)
- Etanol 78 % (Kefo, Slovenija)
- Etanol 95 % (Kefo, Slovenija)
- MES/TRIS pufer (Acros organics, Belgija)
- Otopina klorovodične kiseline (Carlo Erba, Francuska)

3.1.3. Aparatura i pribor

Određivanje sadržaja vode

- Analitička vaga (Kern ALS 200-4N, Njemačka)
- Eksikator sa silikagelom i indikatorom zasićenosti
- Električni sušionik (130 °C), Instrumentaria, ST-01/02 (Zagreb, Hrvatska)
- Laboratorijska žlica
- Metalna zdjelica sa standardiziranim poklopcem ϕ 55 mm, vidine 15 mm, otporne na koroziju

Određivanje količine pepela

- Analitička vaga (Kern ALS 200-4N, Njemačka)
- Eksikator sa silikagelom i indikatorom zasićenosti
- Keramičke posudice za spaljivanje
- Mufolna peć s regulatorom temperature i dovoljnim strujanjem zraka
- Ploča s električnim zagrijavanjem
- Termorezistentna ploča

Određivanje proteina po Kjeldahlu

- 10 mL dispENZETA za koncentriranu H_2SO_4
- 25 mL birete
- 25 mL dispENZETA za bornu kiselinu
- 250 mL Erlenmayer-ova tikvice
- Analitička vaga (Kern ALS 200-4N, Njemačka)
- Digestor
- Kjeldahl-ove kivete za mineralizaciju sa stalkom (Foss, Danska)
- Posudice za vaganje od nehrđajućeg čelika
- Tecator Kjeltec System 1002 (Foss, Danska)
- Uređaj za destilaciju (Foss, Danska)
- Uređaj za mineralizaciju (Foss, Danska)

Određivanje šećera po Luff-Shoorlu

- Analitička vaga (Kern KB, Njemačka)
- Azbestna mrežica i tronožac
- Bunsenov plamenik
- Erlenmayer-ova tikvica s brušenim čepom od 300 mL
- Odmjerne tikvice od 100 i 250 mL
- Pipete od 10 i 25 mL
- Povratno hladilo
- Vodena kupelj

Određivanje udjela masti

- Liebigovo hladilo
- Tikvice s okruglim dnom

Određivanje vlakana

- Analitička vaga (Kern ALS 200-4N, Njemačka)
- Boca sisaljka
- Boce sa čepom od 400 mL i 600 mL
- Büchnerov ljevak
- Eksikator sa silikagelom
- Električni sušionik (130°C), Thermo Scientific, HERATHERM OGS60 (Waltham, SAD)
- Izvor vakuuma
- Lončići sa celitom (Schott, Duran)
- Magnetna miješalica i šipke za miješanje (IKA, Njemačka)
- Menzura od 1000 mL
- Mikropipete od 150, 200 i 500 μ L
- Mufolna peć
- pH metar kalibriran s puferima pH (Jenway, Velika Britanija)
- Pipete od 20 mL
- Špatula

- Vodena kupelj sa poklopcem i sposobnosti održavanja temperature (Stuart, Velika Britanija)

Pečenje

- Analitička vaga (Kern KB, Njemačka)
- Fermentacijska komora (Weisheu, Njemačka)
- Kemijske čaše
- Kolorimetar (Konica Minolta, Engleska)
- Kuhinjski mikser (Electrolux, Švedska)
- Pekarska peć (Weisheu, Njemačka)
- Teksturometar Stable Micro System - Texture Analyser TA.HD. Plus (Velika Britanija)
- Žlica

3.2. METODE RADA

3.2.1. Plan pokusa razvoja recepture kruha

U ovom diplomskom radu korišten je program Design Expert 10 (StatEase, SAD), za izradu složenog centralnog plana pokusa (engl. *central composite design*) i za optimizaciju recepture bezglutenskog kruha. Plan je uključivao dvije varijable (bučinu pogaču i proso) testirane na 5 nivoa (dva faktorska, jedna centralna i dva aksijalna). Centralna točka imala je pet ponavljanja, što je u konačnici rezultiralo s 13 pokusa, prikazanih u tablici 1.

Tablica 1. Dizajn pokusa za optimizaciju recepture bezglutenskog kruha

Redni broj pokusa	Oznaka uzorka	Faktor 1	Faktor 2	<i>Faktor 1</i>	<i>Faktor 2</i>
		A:Proso	B:Buca	<i>A:Proso</i>	<i>B:Buca</i>
		% na brašno	% na brašno	<i>kodirani faktori</i>	<i>kodirani faktori</i>
1	B30,P50	50	30	<i>1</i>	<i>1</i>
2	B10,P30	30	10	<i>0</i>	<i>-1</i>
3	B20,P50	50	20	<i>1</i>	<i>0</i>
4	B20,P30	30	20	<i>0</i>	<i>0</i>
5	B10,P50	50	10	<i>1</i>	<i>-1</i>
6	B20,P30	30	20	<i>0</i>	<i>0</i>
7	B20,P30	30	20	<i>0</i>	<i>0</i>
8	B20,P30	30	20	<i>0</i>	<i>0</i>
9	B20,P10	10	20	<i>-1</i>	<i>0</i>
10	B20,P30	30	20	<i>0</i>	<i>0</i>
11	B10,P10	10	10	<i>-1</i>	<i>-1</i>
12	B30,P10	10	30	<i>-1</i>	<i>1</i>
13	B30,P30	30	30	<i>0</i>	<i>1</i>

3.2.2. Probna pečenja bezglutenskog kruha

Pripremljena su tijesta mase 500 g za 13 probnih pečenja prema 9 različitih receptura uz ponavljanje kontrolne recepture. Recepture su redoslijedom kako su izvođene prikazane u tablici 1. Osim sastojaka navedenih u tablici 2, u svakoj od receptura također su korištene sljedeće sirovine: 31,2 g bjelanjka u prahu, 2,4 g guar gume, 2,4 g hidroksipropilmetilceluloze (HPMC-a), 4,56 g kuhinjske soli, 3,36 g konzumnog šećera, 5,52 g suhog kvasca i 265 g zagrijane vodovodne vode na 30 °C.

Tablica 2. Recepture kruhova prema dizajnu pokusa

SASTOJCI	Udjel brašna (g)												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Rižino brašno	84	156	84	12	108	60	108	36	84	132	84	84	60
Heljdino brašno	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36
Bučina pogača	48	24	48	72	24	72	72	48	48	48	48	48	24
Proseno brašno	72	24	72	120	72	72	24	120	72	24	72	72	120

Tijesto se pripremalo iz 240 g brašna te 265 g vode. Svi sastojci iz recepture su izvagani te su se kvasac i šećer dodali u 25 mL prethodno zagrijane vode na 30 °C. Pastozna smjesa kvasca, šećera i vode je prije korištenja stavljena u fermentacijsku komoru na 10 minuta. Za to vrijeme suhi su se sastojci iz recepture (rižino brašno, heljdino brašno, bučina pogača, proseno integralno brašno, sol, bjelanjak u prahu, guar guma i HPMC) miksali kuhinjskim mikserom. Nakon završene predfermentacije, kvasac se dodao u suhe sastojke uz ispiranje ostatkom vode od 240 mL te se smjesa miksala 3 minute, na brzini 1. Slijedilo je miksanje 1,5 minutu na većoj brzini (5) te završno miksanje traje 3,5 minute na brzini 1. Dobiveno tijesto podijelilo se u komade težine 90 g, stavilo u kalupe za kolačiće (engl. *muffine*) te u fermentacijsku komoru. Fermentacija se provodila na 30 °C pri 80 % relativne vlažnosti u trajanju od 28 minuta. Po završetku fermentacije tijesto se pažljivo prenijelo iz fermentacijske komore u peć na pečenje u kojoj su postavljeni parametri pečenja prikazani u tablici 3. Pečenje se provodilo 16 minuta uz prvotno naparavanje (40 mL vode/100 g tijesta). Kruh se nakon pečenja hladio sat vremena na sobnoj temperaturi. Na jednom od uzorka kruha provodi se kolorimetrija, analiza boje, dok se na ostalim uzorcima određivala tekstura.

Tablica 3. Parametri pečenja kruha

Parametar	Temperatura
Temperatura predgrijavanja gornja strana	260 °C
Temperatura predgrijavanja donja strana	260 °C
Temperatura pečenja gornja strana	240 °C
Temperatura pečenja donja strana	235 °C
Vrijeme pečenja	16 min
Dovod/Odvod zraka	zatvoren
Naparavanje	75 L

3.2.3. Određivanje fizikalnih svojstava kruha

3.2.3.1. Određivanje specifičnog volumena kruha

Masa kruha određivala se 2 sata nakon pečenja na digitalnoj vagi, dok se volumen određivao 1 sat i 30 min nakon vađenja kruha iz pećnice. Volumen je mjeren u paralelama pomoću standardne metode AACC 10-05.01, dok se specifični volumen računa kao omjer volumena i mase.

3.2.3.2. Prinos tijesta, volumena, kruha te gubitak pečenjem

Prinos tijesta, prinos volumena, prinos kruha i gubitak pečenjem su izračunati prema navedenim jednadžbama:

- Prinos tijesta:

$$P_t = \frac{\text{ukupna masa sirovina}}{\text{masa brašna}} \times 100 \quad (1)$$

- Prinos volumena:

$$P_v = \frac{\text{volumen kruha} \times P_t}{\text{masa tjestanog komada}} \quad (2)$$

- Prinos kruha:

$$Pk = \frac{\text{masa kruha} \times Pt}{\text{masa tjestanog komada}} \quad (3)$$

- Gubitak pečenjem:

$$GP = \frac{\text{masa tjestanog komada} - \text{masa kruha}}{\text{masa tjestanog komada}} \times 100 \quad (4)$$

3.2.4. Boja sredine i kore kruha

Boja sredine kruha i same kore kruha određuje se pomoću kolorimetra, koji je prikazan na slici 6, s pločom promjera 8 mm (Spectrophotometer CH-3500 D, Konica Minolta, Engleska) pri čemu je izmjerena boja kore gornje površine kruha, donje površine kruha te sredine kruha.



Slika 6. Kolorimetar (Spectrophotometer CH-3500 D, Konica Minolta, Engleska), (Vlastita fotografija)

Uzorak kruha postavljen je na otvor te je poklopljen s poklopcem u obliku duguljastog tuljca. Računalnim programom pokrenulo se snimanje prilikom čega se otvorilo podnožje ispod ploče i uzorak se osvijetlio a refleksija se očitavala na računalu. Uobičajeno se za određivanje boje hrane mjere parametri: L^* , a^* , b^* , C^* i h , ili CIELab, koji kod određivanja boje predstavlja međunarodni standard za prostor boja utemeljen od strane CIE (Commission Internationale de l'Eclairage's). Vrijednosti označuju: L^* označava indeks svjetline neke komponente te se prema njemu svaka

boja može klasificirati na skali između crne (0) i bijele (100); a^* daje vrijednosti za crvene i zelene tonove, pri čemu crveni daju pozitivne, a zeleni negativne vrijednosti; b^* daje vrijednosti za žute i plave tonove gdje su žuti tonovi pozitivne vrijednosti, a plavi tonovi negativne vrijednosti; C^* prikazuje kvantitativno svojstvo koje opisuje obojenost, a koristi se za određivanje stupnja razlike u nijansi boje u usporedbi sa sivom bojom jednake svjetline; h je kvalitativno svojstvo koje opisuje nijansu boje i primjenjuje se kod određivanja razlike u boji u odnosu na sivu boju jednake svjetline.

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (5)$$

$$h^* = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (6)$$

3.2.5. Određivanje teksture



Analiza teksture provodila se na teksturometru (Stable Micro Systems TA-HD plus texture Analyser), s nastavkom od 30 kg i promjerom sonde 25 mm što je prikazano na slici 7. Uzorak kruha se postavio na otvor ispod same sonde uređaja te se pomoću računala pokrenula analiza. Sonda se spušta do uzorka, započinje penetraciju do 2 cm dubine te se nakon toga vraća u prvobitno stanje udaljenosti sonde od uzorka. Sva mjerenja provedena su u dva paralelna mjerenja.

Slika 7. Teksturometar Stable Micro Systems TA-HD plus texture Analyser, nastavak 30 kg i promjer sonde 25 mm, (Vlastita fotografija)

3.2.6. Optimizacija recepture

Metoda odzivnih površina površina (engl. *response surface methodology*, *RSM*) korištena je za ispitivanje utjecaja različitih udjela bučine pogače i prosenog brašna na parametre prinosa kruha, gubitka pečenjem, volumena te teksture (tvrdoće, rezilijencije, kohezivnosti, elastičnosti, gumenosti i žvackljivosti) te su dobivene modelne jednadžbe.

Za optimizaciju recepture bezglutenskog kruha bazirane na različitim udjelima bučine pogače i prosenog brašna, korištena je metoda poželjnosti. Numerička funkcija optimizacije upotrijebljena je za pronalaženje sastava koji daje istodobno maksimalnu poželjnost za svih 8 parametara, odnosno maksimalne vrijednosti za prinos kruha, volumen kruha, rezilijenciju, kohezivnost i elastičnost te minimalne vrijednosti za tvrdoću, gumenost i žvackljivost. Svi odabrani parametri obilježeni su faktorom važnosti s 3. Obzirom na dobivene vrijednosti poželjnosti, odabrane su dvije recepture. Proizvodnja kruha iz optimalnih receptura provedena je kako je opisano u poglavlju 3.2.2. te je na istima provedena i senzorska analiza opisana u poglavlju 3.2.8. Osim toga, kruhovima proizvedenima prema optimalnim recepturama su izmjereni parametri kvalitete te su dobivene vrijednosti uspoređene s predviđenim vrijednostima dobivenih modela kako bi se utvrdila pouzdanost modela, i to prema jednadžbi: $\text{greška modela} = (\text{eksperimentalno-predviđeno})/\text{predviđeno} \times 100 \%$.

3.2.7. Određivanje kemijskog sastava sirovina i kruha

3.2.7.1. Određivanje sadržaja vode u brašnu i kruhu

Metoda je temeljena na sušenju uzorka heljadinog brašna i uzorka kruha na temperaturi od 130 °C do 133 °C, gdje gubitak mase, iskazan u postocima, odgovara sadržaju vode u uzorku (NN 74/88). Uzorak (3 g) je izvagan u prethodno osušenu i izvaganu posudu s poklopcem te je unesen u sušionik prethodno zagrijan na 130 °C. Otvorena posudica s uzorkom sušila se u električnom sušioniku 90 minuta, pri čemu je vrijeme mjereno nakon unošenja posudice, no od trenutka kada sušionik postigne temperaturu od 130 °C. Nakon navedenog vremena sušenja, posudica s uzorkom se zaklopila poklopcem te izvadila iz sušionika i ostavila u eksikatoru na hlađenju. Ohlađena posuda odvagana je na analitičkoj vagi s točnošću od 0,001g. Za svaki od uzorka provela su se 2 paralelna mjerenja.

Udio vode računa se prema sljedećoj jednadžbi:

$$\text{udio vode (\%)} = \frac{(m_0 - m_1)}{m_0} \times 100 \quad (7)$$

gdje je:

m_0 = masa uzorka (g)

m_1 = masa uzorka nakon sušenja (g)

Sadržaj vode u kruhu je provoden na isti način, ali se prije sušenja u sušioniku kruh sušio na zraku na sobnoj temperaturi 15 do 20 sati te nakon sušenja uzorak je vagan, pa izmljeven u laboratorijskom mlincu. Za dobiveni rezultat prethodno osušenog uzorka, razlika u masi je podijeljena s početnom masom uzorka i množena s 100 (A). Nakon toga slijedio je isti postupak kao za žitarice. Nakon vaganja osušenog uzorka, za dobivanje postotka vode u uzorku osušenom u sušnici, razlika u masi dijeljena je s početnom masom i množena sa 100 (B).

$$\text{ukupni udjel vode (\%)} = A + \frac{(100 - A) \times B}{100} \quad (8)$$

gdje je:

A – postotak vode dobiven zračnim sušenjem;

B – postotak vode dobiven sušenjem u sušnici

3.2.7.2. Određivanje količine pepela

Metoda je temeljena na spaljivanju uzorka heljadinog brašna na temperaturi od 900 °C +/- 20 °C, te spaljivanju kruha, na temperaturi 550 °C kroz 4 sata i vaganju dobivenih ostataka (NN 74/88). U prethodnu ohlađenu i izvaganu porculansku posudicu za spaljivanje izvagalo se 3 g uzorka koji je jednakoslojno rasprostren po cijeloj posudi. Uzorak je navlažen etanolom da bi se postiglo ujednačeno izgaranje uzorka. Posuda s uzorkom prvo se zagrijava na električnoj ploči do ugljeniziranja uz pažnju kako ne bi došlo do nastajanja plamena. Kad uzorak ugljenizira, posuda je pažljivo prenesena u mufolnu peć, prethodno zagrijanu do temperature od 550°C. Spaljivanje mora biti završeno 2 sata nakon što peć postigne temperaturu od 900°C, a ohlađeni uzorak je bijele boje. Spaljivanje uzorka kruha provodilo se 4 sata na temperaturi od 550°C. Nakon završetka spaljivanja, uzorak se hladio 1 minutu na termorezistentnoj ploči te nakon toga u eksikatoru do sobne temperature. Kada je postigao sobnu temperaturu, uzorak se brzo vagao radi velike higroskopnosti pepela.

Udio pepela računa se prema sljedećoj jednadžbi:

$$\text{udio pepela (\%)} = \frac{m_1}{m_0} \times 100 \quad (9)$$

gdje je:

m_0 = masa uzorka (g)

m_1 = masa pepela (g)

3.2.7.3. Određivanje bjelančevina

Metoda se temelji na mineralizaciji organskog dušika pri čemu nastaje amonijev sulfat koji se alkalizira s NaOH u suvišku. Alkalizacijom nastaje amonijak koji se destilira bornom kiselinom u suvišku gdje nastaje amonijev bromat; njegovom titracijom solnom kiselinom nastaje amonijev klorid. Bjelančevine u žitaricama, za koje se podrazumijevaju sve dušikove tvari koje žitarica sadrži, određivale su se metodom po Kjeldahlu (HRN ISO, 1999). Odvaga uzorka heljadinog brašna i ispečenog kruha u Tecator kivete iznosila je 1 g u 2 paralele. U svaku kivetu dodana je 1 tableta Kjeldahl katalizatora te 12 mL koncentrirane sulfatne kiseline. Uzorak se miješao dok nije potpuno navlažen kiselinom te se stavio u digestor na mineralizaciju. Spaljivanje se prvih 10 minuta provodilo s maksimalnim protokom, te se nakon toga protok smanjio na 50 %. Po završetku mineralizacije, nakon 60 minuta, tekućina u kivetama je bila bistro zelene boje, te su se kivete ostavile da se ohlade do sobne temperature. Kad su ohlađene u svaku od njih dodalo se 80 mL destilirane vode. Za vrijeme mineralizacije pripremile su se Erlenmayerove tikvice s 25 mL borne kiseline i 3 kapi indikatora, te također za slijepu probu. Prije destilacije uzorka u uređaju za destilaciju koji je bio uključen, na postolje namijenjeno za prihvatnu tikvicu stavila se prazna tikvica dok na mjesto predviđeno za kivetu s uzorkom se stavila prazna kiveta. Zaštitna vratašca su se spustila i pokrenuo se proces. Potrebno je bilo obratiti pažnju na protok vode kroz generator, jer kod preslabog protoka postoji mogućnost preranog prekida destilacije. Kada se pokrenuo generator pare, u prihvatnu praznu tikvicu skupljao se kondenzat što pokazuje da je sistem zagrijan i u funkciji. Nakon provjere, prazna prihvatna tikvica zamijenila se sa tikvicom sa bornom kiselinom u koju se uronila cjevčica, također se prazna kiveta zamijenila s Kjeldahlovom kivetom s uzorkom. Ponovno se pokrenuo proces čime je dozirano 50 mL 40 % NaOH u Kjeldahlovu kivetu

s uzorkom i pokrenula se destilacija koja se odvija automatski 4 minute. Dobiveni destilat bio je zelene boje što pokazuje prisustvo amonijaka. Nakon završene destilacije, Kjeldahlova kiveta se ispraznila u izljev uz obilje hladne vode dok se destilat prvotno hladio kako ne bi došlo do gubitka amonijaka te titrirao sa klorovodičnom kiselinom: Potreban utrošak klorovodične kiseline za promjenu boje iz zelene u blijedo ružičastu se zapisao te je pomoću njega izračunat postotak dušika i udio proteina u uzorcima.

Postotak dušika (% N) i udio proteina izračunaju se prema sljedeće navedenim jednadžbama:

$$\% N = \frac{\{(a-b) \times N \times f \times 1,4007\}}{m} \quad (10)$$

$$\% \text{ proteina} = \% N \times F \quad (11)$$

gdje je:

a – udio HCl utrošen za titraciju uzorka (mL)

b – udio HCl utrošen za titraciju slijepe probe (mL)

N – molaritet kiseline

f – faktor za preračunavanje dušika u proteine (6,25)

m – masa uzorka (g)

3.2.7.4. Određivanje šećera

Metoda se temelji na činjenici da u određenim uvjetima reducirajući šećeri prevode iz Luffove otopine kuprisulfat u bakreni oksidul. Neutrošena količina kupri-iona se retitrira s otopinom tiosulfata, te iz razlike utroška za slijepu probu i uzorak moguće je očitati količinu šećera iz tablice (Egan i sur., 1981). Odvaga uzorka heljadinog brašna i uzorka kruha iznosila je 10 g u čaši obujma 400 mL, na što je dodano 200 mL vode. Pomoću 5 mL Carezz I i 5 mL Carezz II otopine odstranile su se balastne tvari, te je potrebno dobro promiješati sadržaj čaše nakon svakog dodavanja od otopina. Cjelokupna količina uzorka prenesena je u odmjernu tikvicu od 250 mL, koja se do oznake dopunila destiliranom vodom, promiješala te se uzorak filtrirao. Time je dobiven filtrat I. 10 mL filtrata I otpipetiran je u odmjernu tikvicu od 100 mL, razrijeđen sa 30 mL destilirane vode i dodalo se 0,5 mL koncentrirane klorovodične kiseline. Odmjerna tikvica se tada stavila u vodenu kupelj na hidrolizu 30 minuta. Nakon 30 minuta u sadržaj odmjerne tikvice dodalo se par kapi fenolftaleina kao indikatora. Sadržaj tikvice se neutralizirao sa 1 mol/L otopinom NaOH te se do

oznake tikvice nadopunio destiliranom vodom. 25 mL Luffove otopine otpipetiralo se u Erlenmayerovu tikvicu od 300 mL, dodalo se 25 mL razrijeđenog filtrata I te se tikvica zagrijala izravno na plameniku do samog vrenja. Tikvica se tada spojila sa povratnim hladilom te od trenutka ključanja se kuhala 10 minuta nakon čega se tikvica hladila pod mlazom hladne vode. Nakon 5 minuta dodalo se 10 mL otopine KI te postupno 25 mL H₂SO₄, koja se dodavala oprezno radi stvaranja CO₂ koji uzrokuje stvaranje pjene. U sadržaj tikvice se tada dodalo nekoliko mL škroba te slijedi titracija sa 0,1 mol/L otopinom natrijeva tiosulfata uz neprekidno mješanje do pojave bijelo sivkasto ljubičaste boje. Na kraju se zapisao utrošak natrijeva tiosulfata. Slijepa proba obavljala se u istim uvjetima kao i uzorak, no umjesto razrijeđenog filtrata I dodalo se 25 mL destilirane vode.

Volumen utrošenog 0,1 M tiosulfata (mL) izračunat je prema formuli:

$$V = SP - U \quad (12)$$

gdje je:

V – volumen 0,1 M tiosulfata koji odgovara količini šećera u uzorku (mL),

SP – volumen 0,1 M tiosulfata pri titraciji slijepa probe (mL),

U – volumen 0,1 M tiosulfata potrošen pri titraciji otopine uzorka.

Prema dobivenoj vrijednosti volumena 0,1 M tiosulfata može se izračunati masa šećera uz pomoć pripadajuće vrijednosti iz tablice 4. Udio ukupnog inverta nakon hidrolize izračunat je prema jednadžbi:

$$\% \text{ ukupnih reducirajućih šećera nakon hidrolize} = \frac{250 \text{ mL} * 100 \text{ mL} * X * 100}{Y * 10 \text{ mL} * 25 \text{ mL} * 1000} \quad (13)$$

Tablica 4. Vrijednosti za izračunavanje udjela šećera prema Luff-Schoorl-u

0,1 mol L ⁻¹ Na ₂ S ₂ O ₃ (mL)	Glukoza, fruktoza, invertni šećeri C ₆ H ₁₂ O ₆	
	mg	razlika
1	2,4	
2	4,8	2,4
3	7,2	2,4
4	9,7	2,5
5	12,2	2,5
6	14,7	2,5
7	17,2	2,5
8	19,8	2,6
9	22,4	2,6
10	25,0	2,6

3.2.7.5. Određivanje udjela masti

Metoda se temelji na ekstrakciji iz suhog uzorka heljadinog brašna i uzorka kruha pomoću otapala koje nakon ekstrakcije isparava, te se ostatak važe i izražava kao % sirove masti. Udio masti određivao se metodom po Soxhletu (AACC, 1961). Uzorak se vagao na analitičkoj vagi (5 g) te se kvantitativno prebacio u vrećicu koja se tada stavila u prethodno osušenu i izvaganu tikvicu s okruglim dnom. U tikvicu su se dodale 2 staklene kuglice za vrenje te su se tikvice postavile u ekstraktor. Vrećice s uzorkom u tikvicama su se prelele s potrebnim volumenom otapala, tj. petroletera. Započela je kontinuirana ekstrakcija koja se provodila 4 h uz konstantan oprez da ne bi došlo do zapaljivanja uzorka. Nakon što je ekstrakcija završila, otparilo se otapalo a ostatak u tikvici se stavio na sušenje. Nakon sušenja, ostatak u tikvici se vagao te se odvaga zapisala.

Udio masti izračunava se prema sljedećoj formuli:

$$\text{udio masti (\%)} = \frac{(m_1 - m_2)}{m_0} \times 100 \quad (14)$$

gdje je:

m_0 = masa uzorka (g)

m_1 = masa tikvice s ekstraktom i staklenim kuglicama za vrenje (g)

m_2 = masa prazne tikvice sa staklenim kuglicama za vrenje (g)

3.2.7.6. *Određivanje sastava masnih kiselina*

Sastav masnih kiselina određen je iz uzorka masti (Poglavlje 3.2.7.5.) na plinskom kromatografu ATI Unicam 610 (Cambridge, Engleska) opremljenom s plameno-ionizacijskim detektorom (FID) i kapilarnom kolonom TR-FAME (Thermo), 30 m x 0,22 mm x 0,25 μ m, prema metodi HRN EN ISO 5508:1999. Metilni esteri masnih kiselina, pripremljeni su prema metodi HRN EN ISO 5509:2004. Sastav masnih kiselina nije određen u sklopu ovog diplomskog rada, no određen je u sklopu doktorata koji je trenutno u izradi u Laboratoriju za kemiju i tehnologiju žitarica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, a podaci su preuzeti radi izrade potpunih deklaracija kruha prikazanih u Prilogu 2 i Prilogu 3.

3.2.7.7. *Određivanje udjela vlakana*

Metoda se temelji na podvrgavanju 1 g sušenog i odmašćenog (ako je sadržaj masti veći od 10 %) uzorka u paraleli na enzimatsku digestiju sa termostabilnom α -amilazom, proteazom i amiloglukozidazom. Jedna od paralela koristi se za analizu proteina Kjeldhal metodom (poglavlje 3.2.7.3.), a druga za određivanje pepela nakon spaljivanja na 525°C u mufolnoj peći. Razlika filtriranog i sušenog ostatka s dobivenom količinom proteina i pepela pripada vrijednosti ukupnih vlakana. U boce s čepom izvagali su se uzorci od 1,000g \pm 0,0005g te se dodalo 40 mL MES-TRIS pufera i magnet u svaku bocu. Boce su se postavile na magnetsku ploču koja se uključila te je došlo do miješanja uzoraka u boci dok se uzorak potpuno nije raspršio u otopini, što sprječava stvaranje grudica čime bi uzorak postao nepristupačan za enzime. Dodalo se 50 μ L termostabilne α -amilaze uz lagano miješanje, boce su se zatvorile čepom te su se uzorci stavili u kupelj na 100 °C kroz 30 minuta sa stalnim miješanjem. Nakon završene kupelji uzoraka s α -amilazom, koja se odvija da bi došlo do želatinizacije, hidrolize i depolimerizacije škroba, boce su se hladile na 60 °C. Prije početka inkubacije dodalo se 100 μ L proteaze u svaki uzorak te se provela inkubacija koja se odvijala na 60 °C 30 minuta kako bi se otopili i depolimerizirali proteini. Kada je završena inkubacija, u boce s uzorcima dodano je 5 mL 0.561 N HCl uz stalno miješanje te se podešavala

pH vrijednost na 4.1 – 4.8 uz dodavanje 5 % otopine HCl ili 5 % otopine NaOH. Kada je pH vrijednost podešena, u uzorke se dodalo 200 μ L amiloglukozidaze koja se koristi za hidrolizu fragmenata škroba na glukozu te je slijedila ponovna inkubacija na 60 °C 30 minuta.

3.2.7.7.1. *Određivanje netopljivih prehrambenih vlakana*

Celit u lijevku navlažio se destiliranom vodom te uključenjem vakuuma pravilno rasporedio po cijeloj površini lončića. Enzimski digest se prenio kvantitativno u lijevak te se boca isprala dva puta sa 10 mL prethodno zagrijane destilirane vode na 70 °C. Dobiveni filtrat se uklonio i prebacio u bocu od 600 mL, a lijevak s lončićem se stavio na novu bocu sisaljku te se talog isprao dva puta s po 10 mL 95 % etanola i dva puta sa po 10 mL acetona. Lončići su se sušili u termostatu preko noći na 103 °C te nakon toga hlade u eksikatoru sat vremena i važu s točnošću ± 0.0001 g.

3.2.7.7.2. *Određivanje topljivih prehrambenih vlakana*

Filtrat dobiven kod određivanja netopljivih vlakana prebacio se u bocu od 600 mL te mu se odredio točan volumen. Zatim se tretirao s 4 volumena filtrata 95 %-tnim etanolom prethodno zagrijanim na 60 °C, kako bi se istaložila topljiva vlakna te uklonili depolimerizirani proteini i glukozu iz škroba. Filtrat se tako ostavio sat vremena na sobnoj temperaturi kako bi se istaložila vlakna. Prije same filtracije, lončić s celitom se navlažio s 78 %-tnim etanolom te se uključio vakuum radi ravnomjerne raspodjele celita. Filtrat se kvantitativno prenio etanolom te se boca ispirala dva puta sa po 15 mL 78 %-tnim etanolom, dva puta sa po 15 mL 95 %-tnim etanolom te dva puta sa po 15 mL acetonom. Lončići su se stavili na sušenje u termostat preko noći na 103 °C te nakon toga su se hladili u eksikatoru sat vremena i vagali s točnošću ± 0.0001 g. Nakon sušenja, uzorak se analizirao na sadržaj proteina ili pepela.

3.2.8. *Senzorsko ocijenjivanje kruha*

Odabrani panel od 8 članova ocijenio je dva kruha odabrana prema programu Design Expert. Parametri koji su se bodovali su intenzitet: boje vrha, boje dna i boje sredine kruha, zatim poroznost, miris, mrvljivost (kao mrvljivost pod prstima), žvackljivost, gumenost, okus, okus „po zemlji“, „po žgancima“ ili „po kemikaliji“ te neugodan naknadni okus ili „aftertaste“. Senzorski upitnik na kojem je provedeno ispitivanje prikazan je u Prilogu 1.

3.2.9. Izrada deklaracije

Kruhovima odabranim optimizacijom određen je kemijski sastav opisan u poglavlju 3.2.7. te je na temelju dobivenih vrijednosti izrađena deklaracija prema Uredbi (EU) br. 1169/2011 Europskog Parlamenta i Vijeća o informiranju potrošača o hrani te prema Zakonu o hrani za posebne prehrambene potrebe (NN 39/2013).

Udio ugljikohidrata je određen računski, oduzimanjem mase vode, masti, proteina, pepela i vlakana od ispitivane količine namirnica (100 g). Energetska vrijednost kruha izračunata je množenjem količine proteina s 4 kcal (17 kJ), raspoloživih ugljikohidrata 4 kcal (17 kJ), masti 9 kcal (37 kJ) i vlakana 2 kcal (8 kJ) u 100 g prema Pravilniku o navođenju hranjivih vrijednosti hrane (NN 29/09).

3.2.10. Statistička obrada

Za obradu eksperimentalnih podataka, analizu i izrada grafova korišteni su Microsoft Office Excel 2010, Design Expert 10, (State-Ease, USA) za optimizaciju, Texture Exponent 32 za teksturu kruha, te Statistica 8 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, SAD) za faktorsku analizu varijance utjecaja sastojaka na boju kruha. Dobiveni rezultati mjerenja prikazani su kao srednja vrijednost i kao standardna devijacija.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je optimizirati recepturu bezglutenskog kruha s integralnim rižinim i heljdinim brašnom kao baznim brašnima, varirajući različite udjele bučine pogače i prosenog brašna, sa kemijskim sastavom prikazanim u tablici 5, prema složenom centralnom planu pokusa (tablica 1).

Tablica 5. Kemijski sastav sirovina (g/100 g), izraženo na suhu tvar

SIROVINA	SUHA TVAR	PROTEINI	PEPEO	MASTI	UKUPNI REDUCIRAJUĆI ŠEĆERI	UKUPNA VLAKNA
<i>RIŽINO BRAŠNO</i>	87,28	8,27	1,99	2,85	2,49	7,42
<i>HELJDINO BRAŠNO</i>	87,58	14,25	2,02	2,81	1,85	6,49
<i>BUČINA POGAČA</i>	98,59	50,90	9,65	22,14	1,93	16,55
<i>PROSENO BRAŠNO</i>	87,80	15	0,45	1,17	0,47	2,69

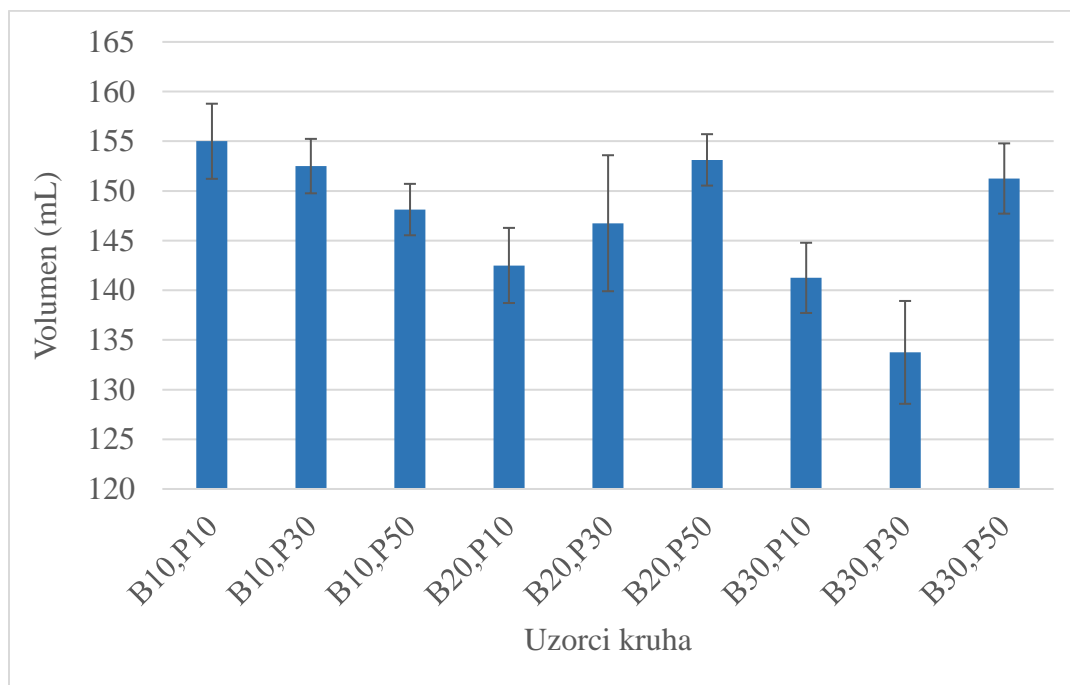
U ovom poglavlju prikazani su rezultati analiza fizikalnih svojstava kruhova (volumen i specifični volumen, prinos volumena i kruha, gubitak pečenjem, parametri boje i tekstura kruha) proizvedenih prema planu pokusa, odnosno recepturama (tablice 1 i 2). Osim toga, prikazane su i skenirane slike presjeka kruhova (slika 16).

U nastavku slijede rezultati utjecaja sirovina na odabrane karakteristike kruha analizirane metodom odzivnih površina, potom rezultati optimizacije te rezultati kemijske i senzorske analize dva najpoželjnija kruha. Konačno, obzirom na recepturu i kemijski sastav, odabranim kruhovima je izrađena deklaracija s kojom bi proizvod bio spreman za tržište, a prikazane su u Prilogu 2 i Prilogu 3.

4.1. Fizikalna svojstva bezglutenskog kruha prema dizajnu eksperimenta

4.1.1. Volumen i specifični volumen kruha

Volumen kruha i specifični volumen kruha prikazani su na slikama 8 i 9, te su u tablici 1 prikazane oznake i opisi uzoraka. Najveći izmjereni volumen od 155 mL kao i najveći izračunati specifični volumen od $1,99 \text{ mL g}^{-1}$ imao je kruh sa 10 % bučine pogače i 10 % prosenog brašna. Iza toga slijedi kruh s 20 % bučine pogače i 50 % prosenog brašna, dok se kao najmanji volumen od 133,8 mL te najmanji specifični volumen od $1,69 \text{ mL g}^{-1}$ pokazao kod kruha sa 30 % bučine pogače i 30 % prosenog brašna. Kruh sa srednjim razinama dodanog brašna (20 % bučine pogače i 30 % prosenog brašna) imao je u prosjeku volumen 146,7 mL te specifični volumen $1,87 \text{ mL g}^{-1}$. Navedeni rezultati su u skladu sa literaturnim navodima Storck i sur. (2013) koji su pokazali smanjenje specifičnog volumena kruha na bazi rižinog brašna kod dodataka visokih koncentracija proteina, s obzirom da se povećanjem udjela bučine pogače povećava i koncentracija proteina. Iz slika je vidljivo da je kod kruhova s 10 % bučine pogače, dodatkom većih količina prosenog brašna volumen padao, dok je kod kruhova s 20 % bučine pogače taj trend bio pozitivan, dok kod kruhova s 30 % bučine pogače linearan trend nije vidljiv.



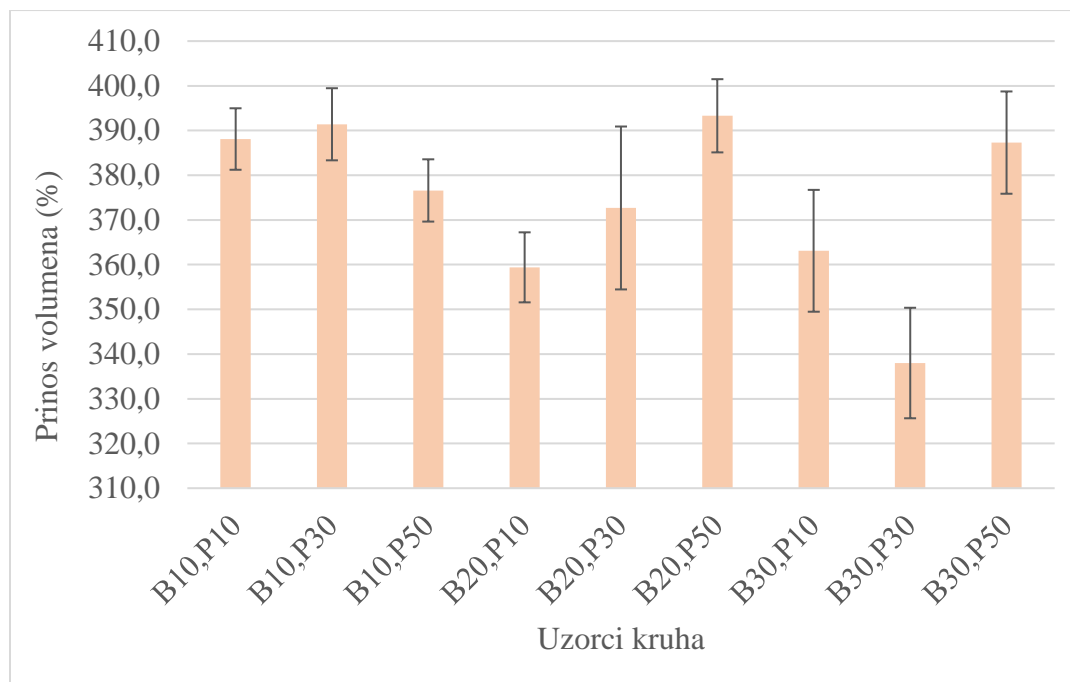
Slika 8. Grafički prikaz izmjerenih volumena kruha (mL) s različitim udjelima bučine pogače (B, 10 %, 20 % i 30 %) i prosenog brašna (P, 10 %, 30 %, 50 %)



Slika 9. Grafički prikaz specifičnog volumena (mL g⁻¹) kruha s različitim udjelima bučine pogače (B, 10 %, 20 % i 30 %) i prosenog brašna (P, 10 %, 30 %, 50 %)

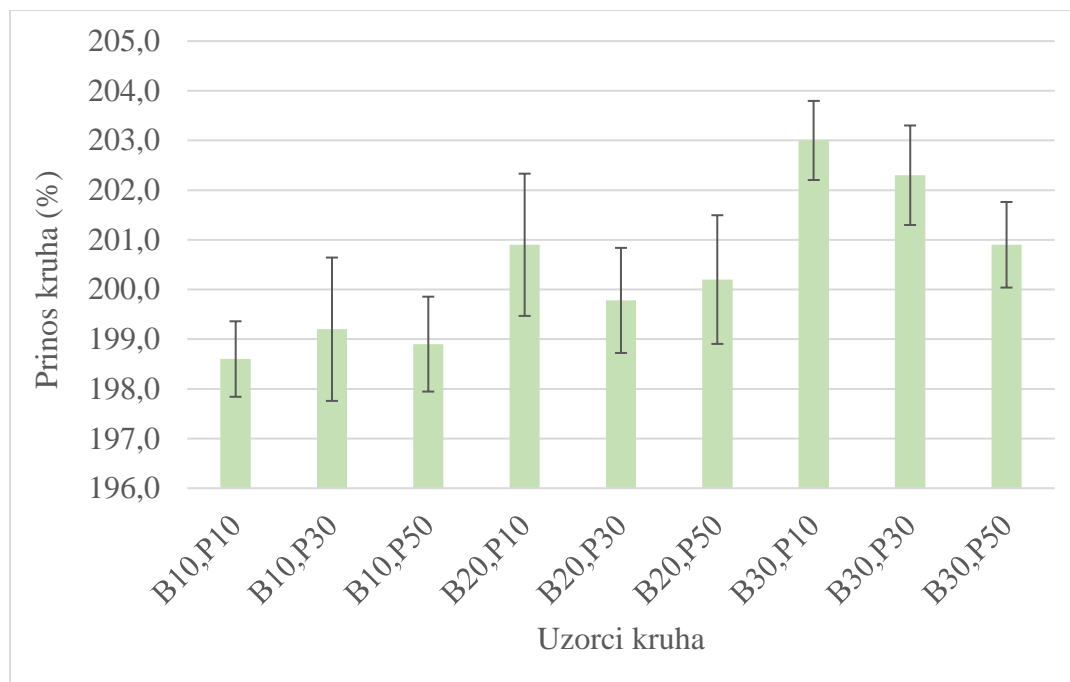
4.1.2. Prinosi volumena i kruha i gubitak pečenjem

Prinosi volumena i kruha te gubitak pečenjem izračunati prema jednadžbama (2), (3) i (4) prikazani su na slikama 10, 11 i 12, te su u tablici 1 prikazane oznake i opisi uzoraka. Najmanji prinos volumena (338 %) imao je kruh sa istim udjelom bučine pogače i prosenog brašna (30 %), a najveći prinos volumena (393,3 %) pokazao je kruh sa 20 % bučine pogače i 50 % prosenog brašna.



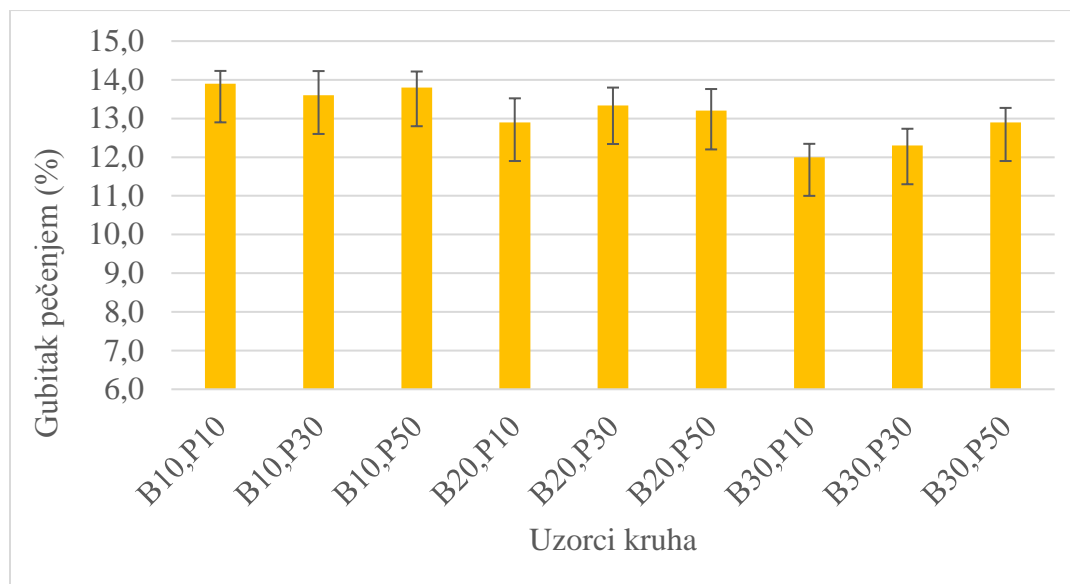
Slika 10. Grafički prikaz prinosa volumena kruha s različitim udjelima bučine pogače (B, 10 %, 20 % i 30 %) i prosenog brašna (P, 10 %, 30 %, 50 %)

Prinos kruha (slika 11) pokazao se najvećim kod kruha s 30 % bučine pogače i 10 % prosenog brašna (203 %) dok je kruh s 10 % bučine pogače i 10 % prosenog brašna (198,6 %) pokazao najmanji prinos kruha. Na slici 11 primjećuje se porast prinosa kruha s povećanim udjelom bučine pogače, no istodobno povećanjem udjela prosenog brašna prinos kruha pada. To se događa zbog toga što povećanjem udjela bučine pogače dolazi do povećanja koncentracije proteina. Dodatkom bučine pogače ujedno je i povećani kapacitet za apsorpciju vode (Milovanović i sur., 2014), što povoljno utječe na sam prinos kruha (Storck i sur., 2013). Osim proteina, povećani je i udio vlakana (Milovanović i sur., 2014), koji također povećavaju apsorpciju vode što je vjerojatno uzrokovano velikim brojem hidroksilnih skupina u molekulama vlakana koje omogućuju povećano vezanje vode preko vodikovih veza (Sabanis i sur., 2009).



Slika 11. Grafički prikaz prinosa kruha s različitim udjelima bučine pogače (B, 10 %, 20 % i 30 %) i prosenog brašna (P, 10 %, 30 %, 50 %)

Najveći gubitak pečenjem (13,9 %) imao je kruh s 10 % i bučine pogače i prosenog brašna, a najmanji gubitak (12 %) utvrđen je kod kruha sa 30 % bučine pogače i 10 % prosenog brašna (slika 12). Gubitak pečenja obrnuto prati trend promjene prinosa kruha, odnosno smanjenjem gubitka pečenjem se prinos kruha povećava. Proteini imaju sposobnost zadržavanje vode čime se povećava kapacitet vezanja vode čime se smanjuje gubitak pečenja (Storck i sur., 2013).



Slika 12. Grafički prikaz gubitka pečenjem kruha s različitim udjelima bučine pogače (B, 10 %, 20 % i 30 %) i prosenog brašna (P, 10 %, 30 %, 50 %)

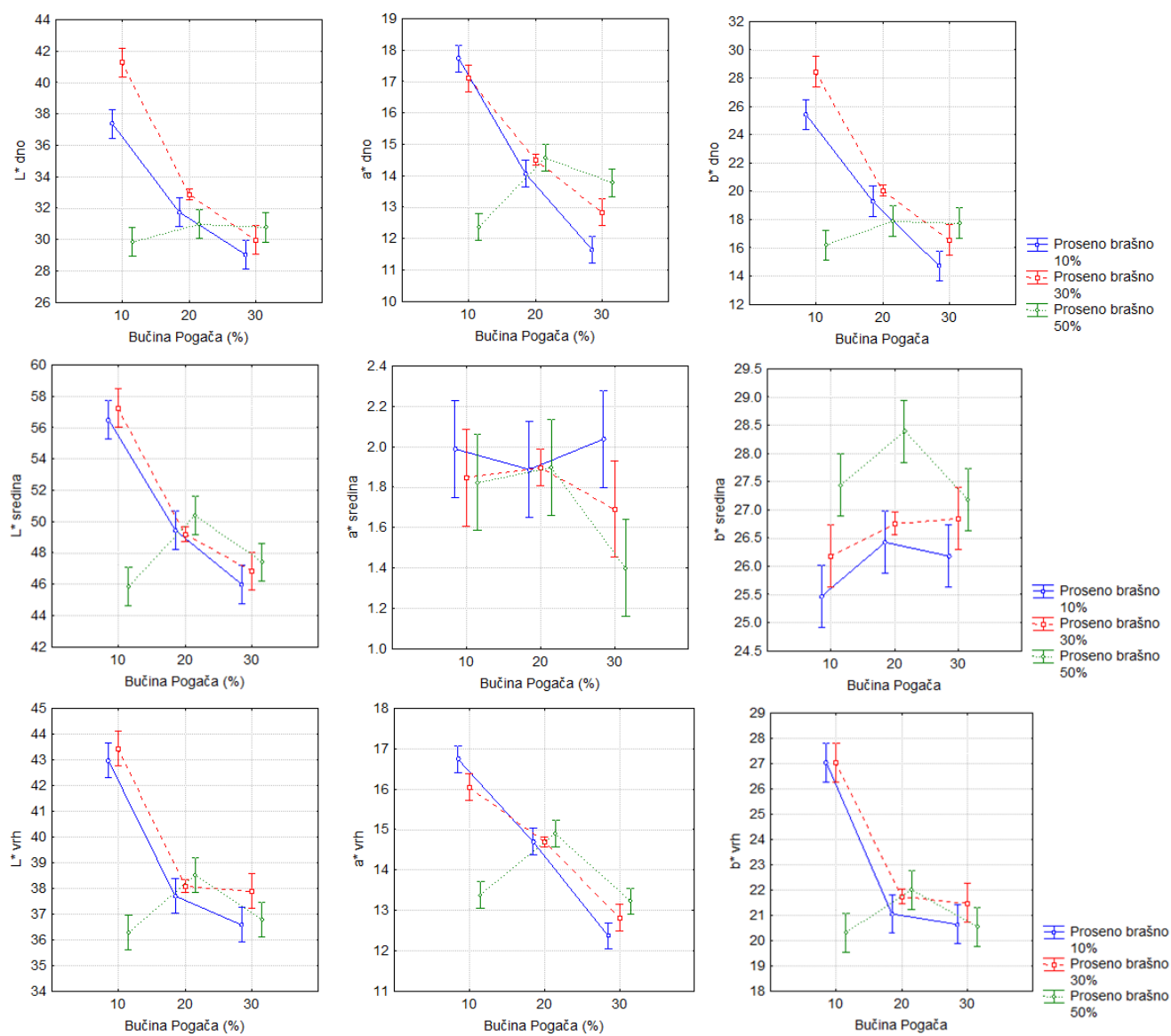
4.1.3. Boja sredine i kore kruha

Izgled je jedan od najznačajnijih senzorskih svojstava svježe i prerađene hrane. Sam pojam „izgled“ je sveobuhvatan pojam koji uključuje i pojmove kao što su veličina, oblik, tekstura, masa, sjaj, boja i druge. Boja površine hrane je jedan od prvih parametara kvalitete koju potrošač primjeti, te se time smatra važnim parametrom kvalitete u prehrambenoj industriji koji utječe na izbor i preferenciju potrošača. S obzirom na jednostavnost, brzinu mjerenja te dobru korelaciju s drugim fizikalno-kemijskim svojstvima, određivanje boje prehrambenih proizvoda koristi se kao neizravan pokazatelj i drugih svojstava proizvoda, kao što su aroma i sadržaj pigmenta (Pankaj i sur, 2013).

Boja se smatra temeljnim fizikalnim svojstvom hrane jer je u velikoj mjeri dokazano da dobro kolerira s drugim fizikalnim i osjetilnim pokazateljima kvalitete proizvoda, također uključujući kruh (Angioloni i Collar, 2009). Na slici 13 vidljiv je utjecaj različitih udjela bučine pogače (10, 20 i 30 %) i prosenog brašna (10, 30 i 50 %) na boju dna, vrha i sredine kruha. Bučina pogača i proseno brašno pokazali su sličan trend utjecaja na svjetlinu dna, sredine i kore kruha. Primjećuje se smanjenje svjetline kruha povećanjem udjela bučine pogače i prosenog brašna, no u kruhovima s 50 % prosenog brašna su kruhovi čak i sa samo 10 % buče bili puno tamniji od kruhova sa 20 i 30 % bučine pogače. Sličan utjecaj su imale bučina pogača i proso na vrijednosti a^* i b^* za koru

kruha (dno i vrh), tj. na crvenu i žutu boju. Povećanjem udjela bučine pogače i prosenog brašna, smanjuje se intenzitet crvene i žute boje, osim kod 50 % prosenog brašna gdje se pokazao sličan trend kao kod svjetline kruha. Kod sredine kruha bučina pogača nije pokazala značajan utjecaj na intenzitet crvene boje, vrijednosti a^* se kreću oko $1,9 \pm 0,2$, dok 50 % prosenog brašna je pokazalo malo veći utjecaj na smanjen intenzitet crvene boje, vrijednost za a^* iznosila je $1,4 \pm 0,3$. Također bučina pogača nije pokazala značajan utjecaj na intenzitet žute boje, vrijednost za sredinu kruha kod 30 % bučine pogače i 10 % prosenog brašna b^* iznosila je $26,2 \pm 0,6$, dok povećanjem udjela prosenog brašna kod istog udjela bučine pogače se povećava i intenzitet žute boje ($27,2 \pm 0,5$). Općenito, iako se bučina pogača ističe jačinom svoje zelene boje te je bilo za očekivati da će isključivo njen dodatak utjecati na parametre boje, iz rezultata je vidljivo da se dodatkom prosenog brašna boja finalnog proizvoda može modificirati.

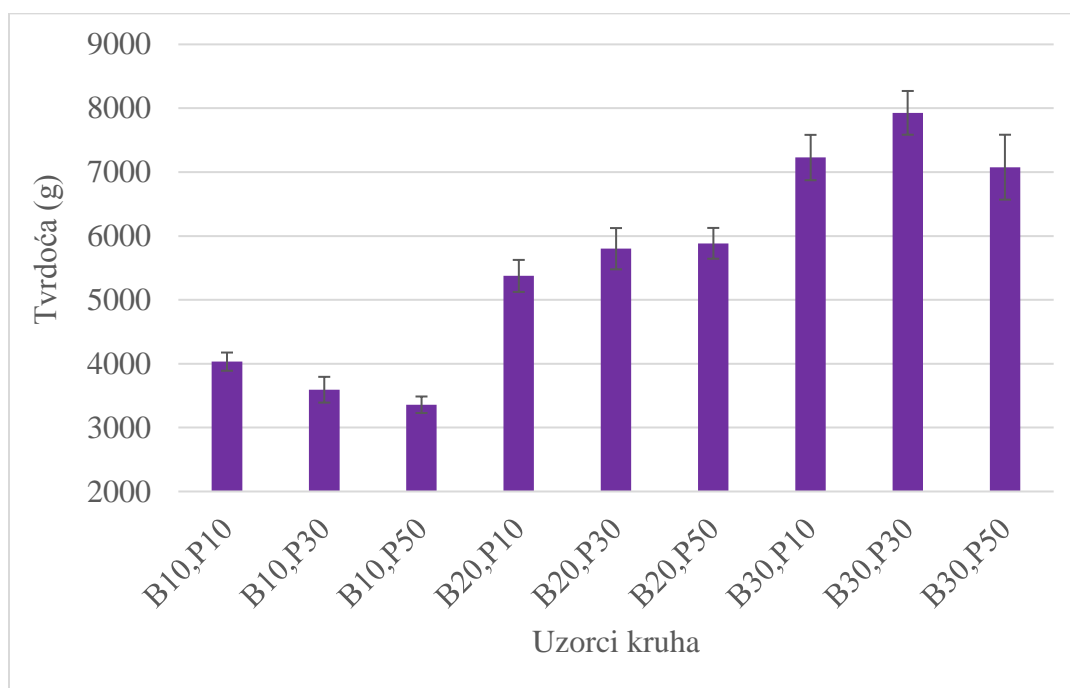
U ovom diplomskom radu boja nije uzeta u obzir kao parametar kod optimizacije recepture bezglutenskog kruha, no postoji mogućnost da se i ona uzme u obzir kako bi se poboljšao prvi parametar kvalitete kojeg će potrošač primjetiti.



Slika 13. Prikaz kombiniranog utjecaja bučine pogače i prosa na parametre boje (L*, a* i b*) dna, sredine i vrha kruha

4.1.4. Tekstura kruha

Tekstura hrane je također prepoznata kao važno svojstvo prihvatljivosti kod potrošača. Percepcija teksture vrlo je dinamično svojstvo jer se fizikalna svojstva hrane neprestano mijenjaju manipuliranjem unutar usne šupljine. U tablici 6 prikazani su rezultati određivanja teksture opisani u poglavlju 3.2.5. Proučavani su parametri rezilijencija, kohezivnost, elastičnost, gumenost i žvakljivost te tvrdoća koja je prikazana na slici 14, a u tablici 1 prikazane su oznake i opisi uzoraka. Najveća vrijednost tvrdoće pokazala se kod kruha sa 30 % udjela bučine pogače i prosenog brašna, dok je najmanju vrijednost pokazao kruh sa 10 % bučine pogače i 50 % prosenog brašna. Kruh sa 10 % bučine pogače i 50 % prosenog brašna pokazao je da ima najslabiju žvakljivost, no najveće vrijednosti za rezilijenciju i elastičnost.



Slika 14. Grafički prikaz tvrdoće kruha s različitim udjelima bučine pogače (B, 10 %, 20 % i 30 %) i prosenog brašna (P, 10 %, 30 %, 50 %)

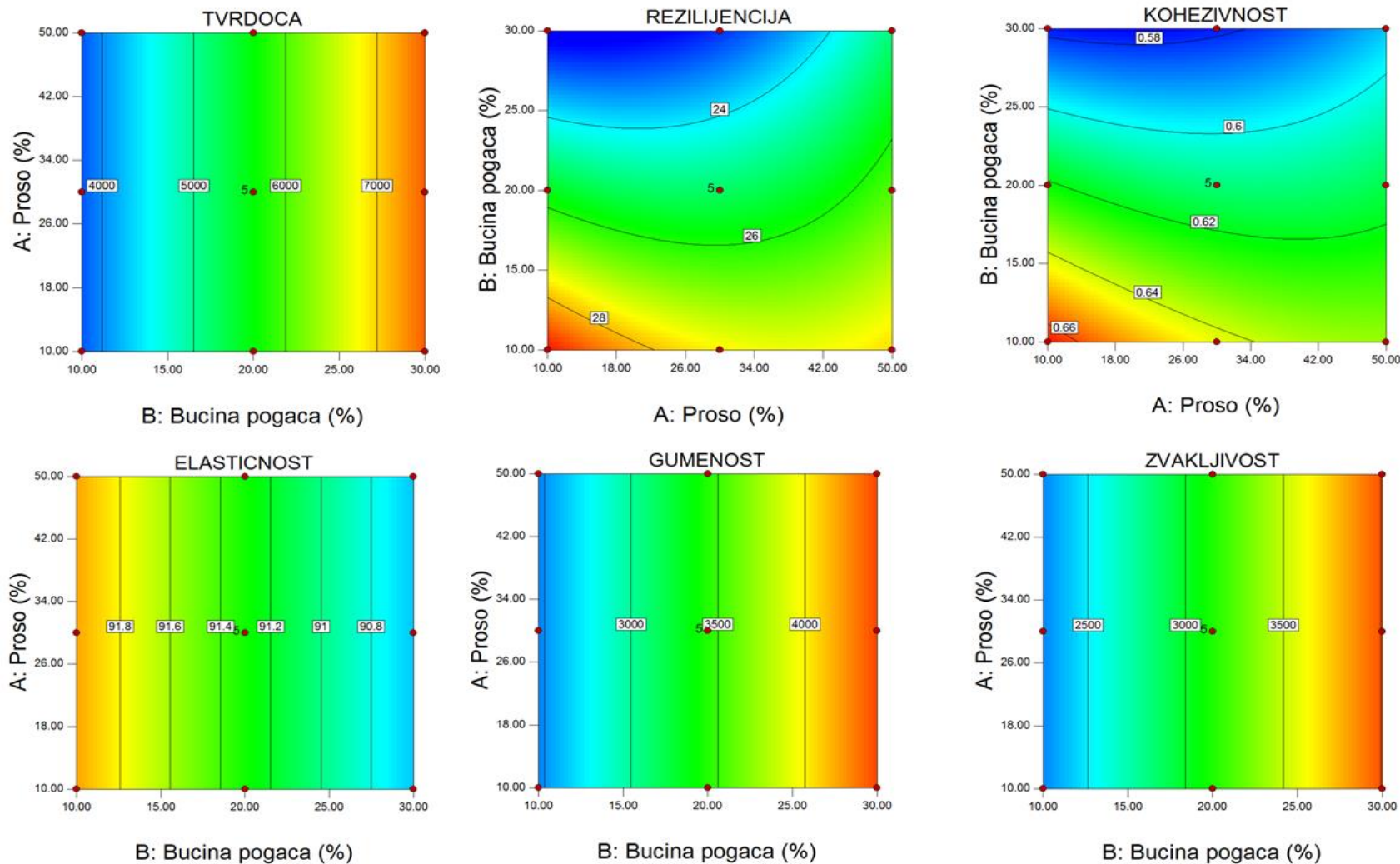
Tablica 6. Rezultati određivanja teksture kruha sa različitim udjelom bučine pogače (B, 10 %, 20 % i 30 %) i prosenog brašna (P, 10 %, 30 %, 50 %)

Svojstvo	Uzorci								
	B10,P10	B10,P30	B10,P50	B20,P10	B20,P30	B20,P50	B30,P10	B30,P30	B30,P50
Rezilijencija	29,3 ± 0,6	27,8±0,8	28,0 ± 0,9	25,0 ± 0,9	25,2 ± 0,8	25,8 ± 0,8	22,5 ± 0,9	22,4 ± 0,7	25,5 ± 0,6
Kohezivnost	0,67 ± 0	0,64 ± 0	0,64 ± 0	0,61 ± 0	0,61 ± 0	0,61 ± 0	0,58 ± 0	0,58 ± 0	0,60 ± 0
Elastičnost	91,5 ± 1,1	92,0 ± 1,4	92,3 ± 1,9	92,1 ± 1,7	91,0 ± 1,4	91,7 ± 1,2	90,4 ± 1,0	91,2 ± 0,9	90,2 ± 1,2
Žvkljivost	2463 ± 67	2128 ± 116	1974 ± 55	3044 ± 181	3545,8 ± 184,3	3294 ± 162	3799 ± 185	4166 ± 231	3811 ± 296
Gumenost	2692 ± 67	2312 ± 112	2139 ± 71	3304 ± 157	3227,6 ± 163,7	3590 ± 156	4201 ± 175	4569 ± 253	4221 ± 294

Prema podacima prikazanima na slici 15 i tablici 6 vidljivo je da se dodatkom prosenog brašna i dodatkom bučine pogače smanjuje rezilijencija kruhova, a slično se događa i s kohezivnosti kruhova. Udio prosenog brašna nema značaj na svojstvo elastičnosti, no dodatkom buče elastičnost kod kruhova se smanjuje. Žvkljivosti, isto kao i kod svojstva gumenosti, je također bitan udio bučine pogače, jer se njenim povećanim udjelom u kruhu vrijednosti tih svojstava povećavaju, dok udio prosenog brašna nema nikakav utjecaj na spomenuta svojstva.

Rezilijencija kruha ili otpor, definira se kao brzina kojom se kruh vraća u prvobitni položaj nakon primjene sile, dok je elastičnost svojstvo u kojem se kruh vraća u prvobitno stanje nakon uklanjanja primjenjene sile. Kohezivnost je parametar koji mjeri koliko dobro kruh podnosi drugu deformaciju u odnosu na način na koji se ponaša tijekom prve deformacije. Žvkljivost govori o energiji koja je potrebna za žvakanje kruha do stanja koje će biti spremno za gutanje, te se ona smatra kao produkt tvrdoće, kohezivnosti i opuštenosti (Smerdel i sur., 2012).

Iz slike 15 možemo vidjeti da bučina pogača ima značajan utjecaj na izmjerene parametre teksture: tvrdoću, rezilijenciju, kohezivnost, elastičnost i gumenost i elastičnost. Povećanjem udjela bučine pogače dolazi do smanjenja rezilijencije, kohezivnosti i elastičnosti kruhova, te se povećavaju vrijednosti za žvkljivost, gumenost i tvrdoću kruhova. Dodatak prosenog brašna je pokazao utjecaj na rezilijenciju i kohezivnost, tj. povećanjem udjela prosa se kao i kod bučine pogače smanjuju vrijednosti navedenih parametara.



Slika 15. Utjecaj različitih udjela bučine pogache i prosenog brašna na parametre teksture
(■ - najniža vrijednost parametra, ■ - najviša vrijednost parametra)

4.1.5. Izgled sredine kruhova

Izgled sredine svih ispečenih kruhova prema zadanim recepturama prikazan je na slici 16. Kruhovi su zbijenije strukture no kod kruhova s većim udjelom bučine pogače vidljiv je veći broj većih pora različitih oblika. Kod uzoraka s manje dodane bučine pogače i većeg udjela prosenog brašna, pore su srednje veličine. Najzbijeniji uzorak, s najmanje većih pora je uzorak koji sadrži 10 % bučine pogače i 10 % prosenog brašna. Prema tome može se zaključiti da udio bučine pogače ima veći utjecaj na strukturu sredine kruha, odnosno na veličinu i broj nastalih pora u sredini kruha, u odnosu na dodani proso.



Slika 16. Sredina kruhova s različitim udjelom bučine pogače (B, 10 %, 20 % i 30 %) i prosenog brašna (P, 10 %, 30 %, 50 %)

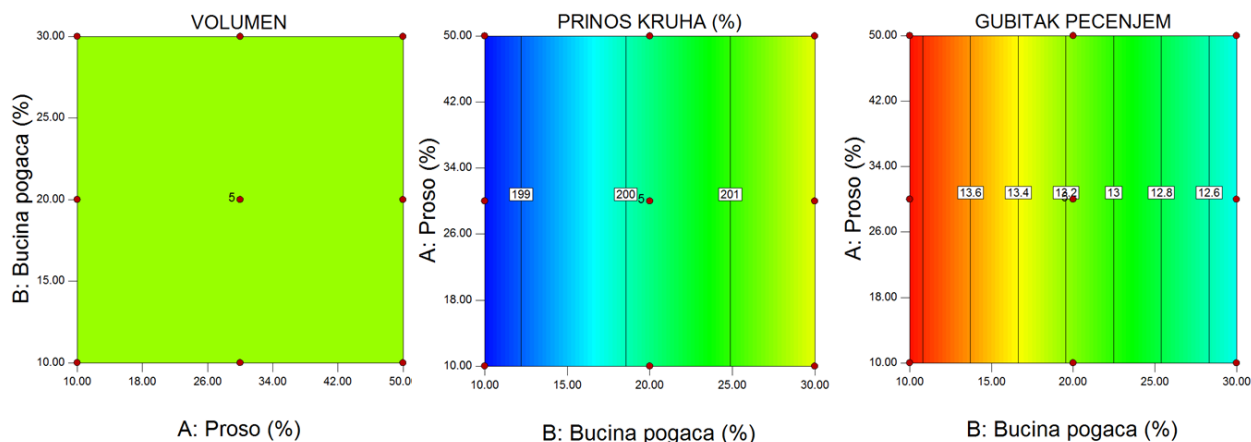
4.2. Utjecaj sirovina na karakteristike kruha i optimizacija

U tablici 7 prikazani su dobiveni rezultati koeficijena jednadžbi modela, a na slici 17 grafovi utjecaja udjela bučine pogače i prosenog brašna na volumen, prinos kruha i gubitak pečenjem te parametre teksture dobivene iz jednadžbi modela. U tablici su prikazani dobiveni modeli, linearni ili kvadratni, što nam pokazuje kako koja od dvije varijable, bučina pogača ili proseno brašno, utječu na pojedini parametar kvalitete kruha. Značajnost koeficijena jednadžbi ovisi o p-vrijednosti, ako je p-vrijednost manja, time je i značajnost veća i obrnuto, ako je p-vrijednost veća, time je i značajnost manja.

Tablica 7. Prikaz dobivenih koeficijena jednadžbi modela, s p-vrijednostima značajnosti

Odziv	Odsječak	A - proso	B - buča	AB	A ²	Model
Prinos kruha	200.230		1.579 <i>p=0.000</i>			Linearan
Volumen	373.885					
Gubitak pečenjem	13.170		-0.685 <i>p=0.000</i>			Linearan
Tvrdoća	5650.850		1875.060 <i>p < 0.0001</i>			Linearan
Rezilijencija	25.154	0.414 <i>p=0.097</i>	-2.468 <i>p < 0.0001</i>	1.072 <i>p=0.004</i>	0.882 <i>p=0.019</i>	Kvadratni
Kohezivnost	0.611	-0.003 <i>p=0.179</i>	-0.032 <i>p < 0.0001</i>	0.011 <i>p=0.003</i>	0.007 <i>p=0.039</i>	Kvadratni
Elastičnost	91.303		-0.671 <i>p=0.013</i>			Linearan
Gumenost	3440.920		974.776 <i>p < 0.0001</i>			Linearan
Žvkljivost	3138.580		868.442 <i>p < 0.0001</i>			Linearan

* *p < 0,01*; *0,01 ≤ p < 0,05*, *0,05 ≤ p < 0,10*, *p ≥ 0,10*



Slika 17. Utjecaja različitih udjela bučine pogače i prosenog brašna na volumen, prinos kruha i gubitak pečenjem

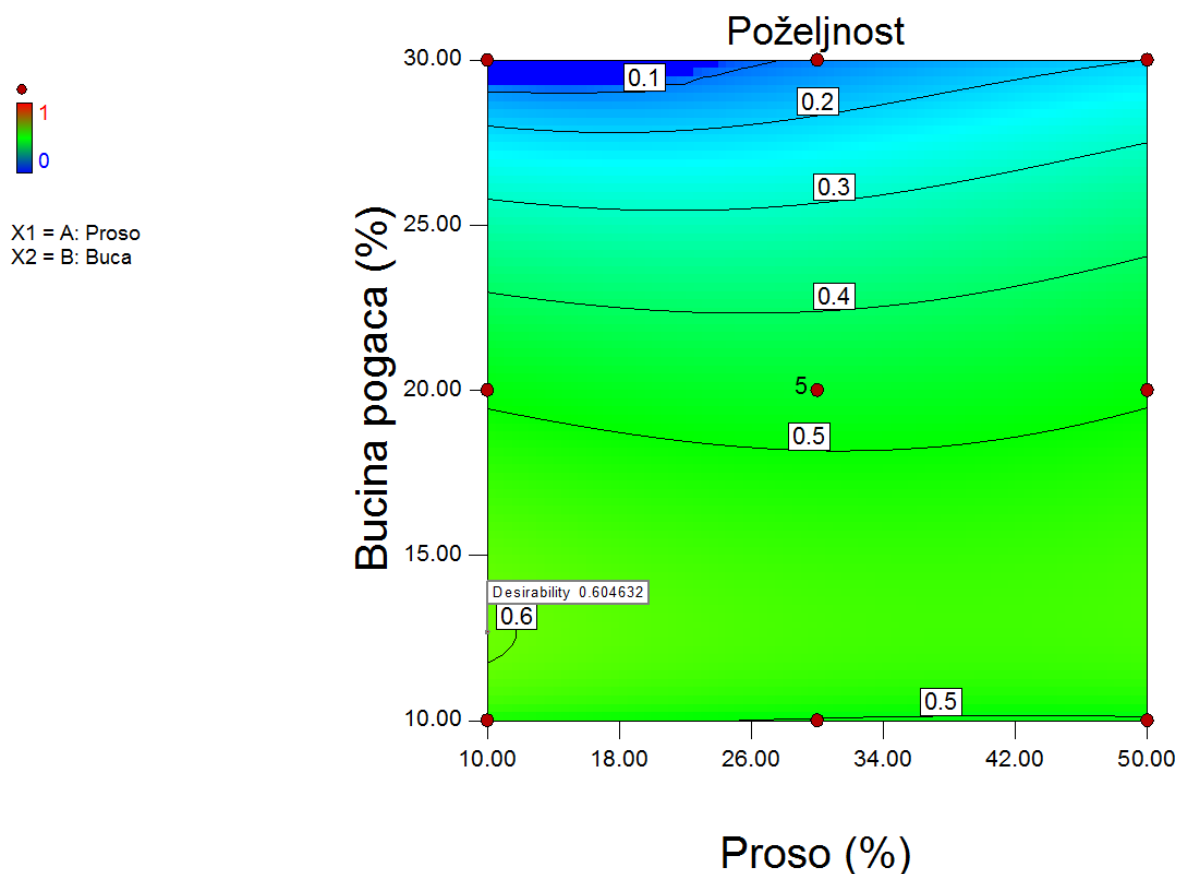
(- najniža vrijednost parametra, - najviša vrijednost parametra)

Rezultati prikazani u tablici 7 i na slici 17 ukazuju da udio bučine pogače i/ili udio prosenog brašna nemaju utjecaj na volumen dobivenog kruha. Također je zapaženo da povećanje udjela prosenog brašna nema utjecaj na prinos kruha, dok povećanje udjela bučine pogače, za razliku od prosenog brašna, ima pozitivan utjecaj na prinos kruha. Na gubitak pečenjem povećanje udjela prosenog brašna nema utjecaj, dok bučina pogača na gubitak pečenjem pokazuje značajan utjecaj, to jest smanjenjem udjela bučine pogače povećava se gubitak pečenjem.

Nakon statističke obrade dobivenih podataka program je prema odabranim fizikalnim parametrima sugerirao najpoželjnija rješenja, pri čemu su količina prosenog brašna, bučina pogača i gubitak pečenjem mogli varirati u ispitivanom rasponu. Nasuprot tome vrijednosti prinosa kruha, volumen, rezilijencija, kohezivnost i elastičnost su maksimizirane, dok su vrijednosti za tvrdoće, gumenosti i žvkljivosti bile poželjne kao što niže. Obzirom na navedene zahtjeve program je odabrao najpoželjnija rješenja te predviđene vrijednosti parametara, a koji su prikazani u tablici 8, dok je grafički prikaz predviđanja poželjnosti obzirom na udjele bučine pogače i prosa prikazan na slici 18. Od odabranih 5 rješenja, ispečena su 2 kruha, receptura 1 i receptura 5 iz tablice 8. Recepture 2, 3, 4 nisu rađene obzirom da se razlikuju u vrlo malim količinama bučine pogače, za što je temeljem iskustva predviđeno da neće značajno utjecati na konačni rezultat. Stoga je napravljena usporedba najpoželjnije recepture sa drugačijim udjelom prosa u recepturi 5, tj sa udjelom prosa od 50 %.

Tablica 8. Optimalni omjeri prosa i bučine pogače dobiveni pomoću Design Expert programa

Parametar/Rješenja	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>
Proso	<u>10</u>	10	10	10	<u>50</u>
Bučina pogača	<u>12,67</u>	12,55	12,88	13,16	<u>13,19</u>
Ugljikohidrati	<u>58,87</u>	58,95	58,74	58,55	<u>59,46</u>
Proteini	<u>15,3</u>	15,25	15,39	15,51	<u>18,22</u>
Vlakna	<u>13,77</u>	13,76	13,79	13,81	<u>11,88</u>
Prinos kruha	<u>199,07</u>	199,05	199,11	199,15	<u>199,15</u>
Volumen	<u>373,89</u>	373,89	373,89	373,89	<u>373,89</u>
Gubitak pečenjem	<u>13,67</u>	13,68	13,66	13,64	<u>13,64</u>
Tvrdoća	<u>4276,85</u>	4254,26	4314,86	4368,89	<u>4373,23</u>
Rezilijencija	<u>28,22</u>	28,26	28,14	28,04	<u>27,4</u>
Kohezivnost	<u>0,65</u>	0,65	0,65	0,65	<u>0,63</u>
Elastičnost	<u>91,79</u>	91,8	91,78	91,76	<u>91,76</u>
Gumenost	<u>2726,62</u>	2714,88	2746,39	2774,47	<u>2776,73</u>
Žvakljivost	<u>2502,21</u>	2491,74	2519,81	2544,83	<u>2546,84</u>
Poželjnost	<u>0,605</u>	0,605	0,604	0,604	<u>0,569</u>



Slika 18. Predviđanje poželjnosti obzirom na udjele bučine pogače i prosa

Na dva najpoželjnija kruha izmjerena su sva fizikalna svojstva (volumen, specifični volumen, prinos kruha, prinos volumena, gubitak pečenjem, tvrdoća, rezilijencija, kohezivnost, elastičnost, gumenost i žvakljivost) te su dobivene vrijednosti uspoređene sa rezultatima predviđenim od strane programa (tablica 8). Za svaki parametar izračunata je pogreška modela u postotku te su one prikazane u tablici 9. Za sve parametre greška je bila ispod 10 % (osim za gubitak pečenjem kod uzorka B12, 7, P10 što je mogući razlog radi različitog broja komada u peći) što nam potvrđuje pouzdanost modela.

Tablica 9. Greška modela u postocima (%)

Uzorak	Svojstvo								
	prinos kruha	prinos volumena	gubitak pečenjem	tvrdća	rezilijencija	kohezivnost	elastičnost	gumenost	žvakljivost
B12,7,P10	2	-3	-12	4	-7	-4	0	3	2
B13,P50	2	0	-10	-5	0	-3	1	-5	-5

*B– bučina pogača, P – proso, Brojevi označavaju udio sastojaka u recepturi (% na masu brašna)

4.3. Kemijski sastav kruha i izrada deklaracije

Kemijski sastav dva najpoželjnija kruha odabrana prema programu Design Expert, izražen na suhu tvar, prikazan je u tablici 10. Iz rezultata je vidljiv jasan utjecaj količine dodanog prosa na kemijski sastav kruhova. Kod kruha s većim udjela prosenog brašna (50 %) također povećan je udio proteina u usporedbi s kruhom s manjim udjelom prosenog brašna (10 %). Nasuprot tome, u kruhu s većim udjelom prosenog brašna određen je manji udio pepela, masti, ukupnih reducirajućih šećera i ukupnih vlakana.

Tablica 10. Kemijski sastav kruha (g/100 g), izraženo na suhu tvar

Uzorak*	Kemijski sastav						
	SUHA TVAR	PROTEINI	PEPEO	MASTI	UKUPNI REDUCIRAJUĆI ŠEĆERI	TOPLJIVA VLAKNA	NETOPLJIVA VLAKNA
B12,7,P10	54,56±0,03	38,34±0,16	7,05±0,00	6,19±0,04	4,12±0,31	2,76±0,14	6,72±0,21
B13,P50	54,45±0,00	40,57±0,02	7,01±0,02	5,33±0,08	3,37±0,15	3,06±0,20	5,82±0,22

*B – bučina pogača, P – proso, Brojevi označavaju udio sastojaka u recepturi (% na masu brašna)

Na temelju dobivenih rezultata kemijskog sastava izrađena je deklaracija za oba odabrana kruha. Deklaracije su izrađene prema Uredbi (EU) br. 1169/2011 Europskog Parlamenta i Vijeća o informiranju potrošača o hrani te prema Zakonu o hrani za posebne prehrambene potrebe (NN 39/2013). Od obaveznih informacija prema Uredbi navedeni su propisani naziv hrane, popis sastojaka padajućim redoslijedom s obzirom na masu, količina sastojaka koji su navedeni u nazivu proizvoda, neto količina hrane u gramima, datum minimalne trajnosti, posebni uvjeti čuvanja, ime i adresa subjekta u poslovanju hranom i nutritivna deklaracija. Prema Zakonu o hrani za posebne prehrambene potrebe, članak 8., naziv proizvoda označen je kao „dijetetska hrana“. Deklaracije za oba kruha nalaze se u Prilogu 2 i Prilogu 3 ovog diplomskog rada.

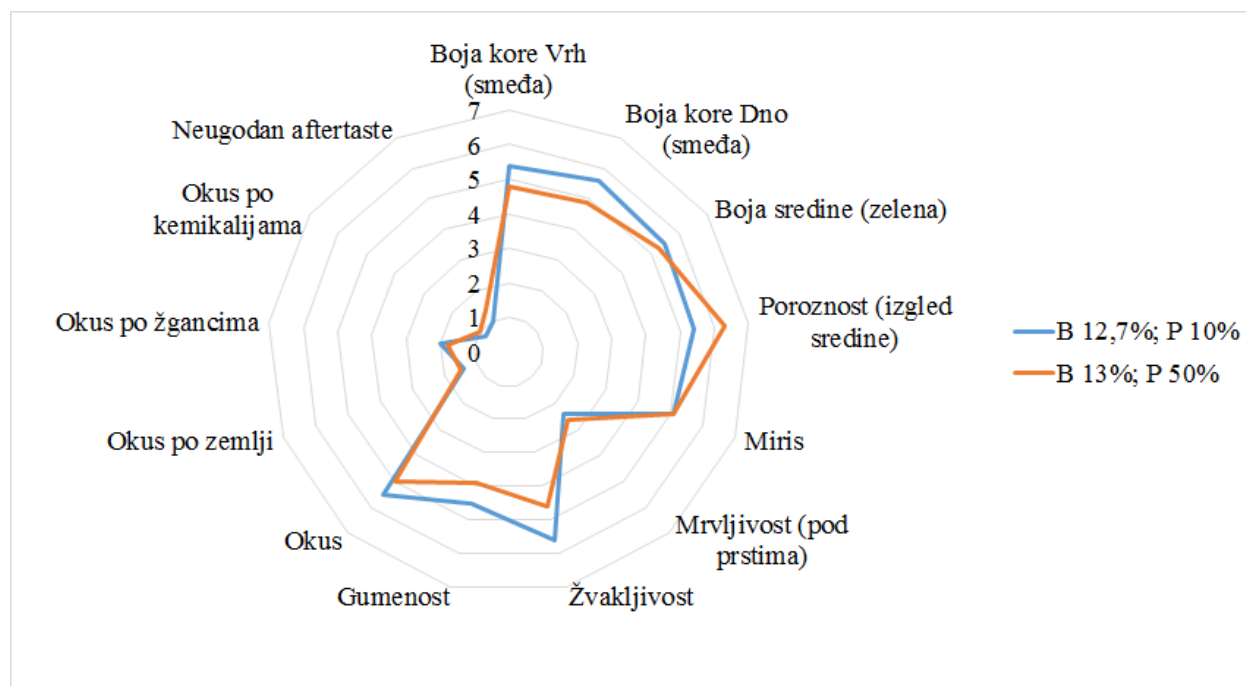
Iz kemijskog sastava kruha (tablica 10) te iz izrađenih deklaracija vidljivo je da kruh od 12,7 % bučine pogače i 10 % prosa sadrži 5,2 g vlakana te mu 40,2 % energetske vrijednosti potječe od proteina. Kruh od 13 % bučine pogače i 50 % prosa sadrži 4,8 g vlakana i 42,3 % energetske vrijednosti mu potječe od proteina. Radi navedenih vrijednosti prema Pravilniku o prehrambenim i zdravstvenim tvrdnjama (NN 84/2010) koji definira da se tvrdnje kao što su „Izvor vlakana“ i „Bogato proteinima“ mogu navoditi na proizvodima koji sadrže više od 3 g vlakana na 100 g proizvoda, odnosno na proizvodima kod kojih više od 40 % ukupne energetske vrijednosti potječe od proteina, oba kruha mogu se označiti kao „Izvor vlakana“ i „Bogat proteinima“.

Usporedno s trenutnom ponudom, na tržištu postoje bezglutenski kruhovi marke Schär koji u ponudi imaju kruhove sa 2-4 g proteina i oko 40 g ugljikohidrata na 100 g te bi sa ovim bezglutenskim kruhom s prosenim brašnom i bučinom pogačom tržište bilo obogaćeno novom vrstom proizvoda. S obzirom na mali udio ugljikohidrata prisutan u ovom kruhu, imao bi potencijalnu upotrebu kod oboljelih od dijabetesa.

4.4. Senzorska svojstva kruha

Dva najpoželjnija kruha su također bila i senzorski ocijenjena od strane panela od 8 članova, odnosno ocijenjen je intenzitet: boje kore (vrha i dna), boje sredine (zelena), poroznosti, mirisa, mrvljivosti, žvackljivosti, gumenosti, okusa, okusa po zemlji, okusa po žgancima, okusa po kemikalijama, i neugodnom naknadnom okusu (aftertaste). Vrijednosti kod boje kore dna i vrha je poželjno da budu bliže vrijednosti 5 što u našem slučaju pokazuje uzorak B13, P50, dok je za vrijednost boje sredine poželjno da bude što niža što je također slučaj kod uzorka B13,P50 (slika

19). Za svojstvo poroznosti je poželjno da je ocjena što viša, a pokazuje ju uzorak B13, P50, dok je za intenzitet mrvljivosti pod prstima bolje ocijenjen uzorak B12, 7, P10, budući da je imao nižu vrijednost. Miris je jednako ocijenjen kod oba uzorka, dok je kod okusa poželjna vrijednost što bliže 5. Za žvackljivost i gumenost očekuju se što niže vrijednosti što i pokazuje uzorak B13,P50. Okus po zemlji, žgancima, kemikalijama i neugodan aftertaste je poželjan što manji i u sva tri slučaja je bolje ocijenjen uzorak B13,P50, no razlike su bile minimalne.



Slika 19. Prikaz srednjih vrijednosti rezultata senzorske analize bezglutenskih kruhova. (B – bučina pogača, P – proso, Brojevi označavaju udio sastojaka u recepturi)

5. ZAKLJUČCI

Na osnovu dobivenih rezultata može se zaključiti da:

1. Variranje udjela bučine pogače (10 %, 20 % ili 30 % na brašno) i prosenog brašna (10 %, 30 % ili 50 % na brašno) ne utječe na volumen i prinos volumena bezglutenskog kruha s integralnim rižinim i heljdinim brašnom kao baznim brašnima.
2. Prinos kruha ne ovisi o udjelu prosenog brašna (10 %, 30 % ili 50 %), no bučina pogača dodana u količinama od 10 %, 20 % ili 30 % ima pozitivan utjecaj na prinos kruha.
3. Bučina pogača ima značajan utjecaj na gubitak mase bezglutenskog kruha pečenjem, dok proso ne utječe na navedeno svojstvo. Povećanjem udjela bučine pogače se smanjuje gubitak pečenjem vjerojatno zbog povećane koncentracija proteina i vlakana iz bučine pogače čime se povećava kapacitet vezanja vode.
4. Variranje udjela bučine pogače i prosenog brašna utječe na parametre teksture kruha: elastičnost se smanjuju dodatkom bučine pogače, dok proseno brašno nema utjecaj na svojstvo elastičnosti. Na kohezivnost i rezilijenciju utječu obje sirovine iako bučina pogača izraženije: povećanjem njihovih udjela u recepturi dolazi do smanjenja kohezivnosti i rezilijencije. Na povećanje tvrdoće, žvackljivosti i gumenosti kruhova pozitivan utjecaj pokazuje povećanje udjela bučine pogače u kruhu.
5. Boja kruha ovisna je i o udjelu dodane bučine pogače i dodanog prosenog brašna.
6. Optimalna receptura kruha obzirom na teksturu, volumen i prinos kruha sadrži 12,7 % bučine pogače te 10 % prosenog brašna, dok je visoku poželjnost pokazao i kruh sa 13 % bučine pogače i 50 % prosenog brašna
7. Kruhovi sa 12,7 % bučine pogače i 10 % prosenog brašna te sa 13 % bučine pogače i 50 % prosenog brašna mogu se označiti kao proizvodi „Bogato proteinima“ s obzirom da 40 % energetske vrijednosti kruha potječe proteina.
8. Kruhovi s 12,7 % bučine pogače i 10 % prosenog brašna te sa 13 % bučine pogače i 50 % prosenog brašna mogu se označiti kao „Izvor vlakana“ s obzirom da proizvod sadrži više od 3 g vlakana na 100 g kruha.

6. LITERATURA

AACC International Approved Methods (1961) 30-25. Crude Fat in Wheat, Corn, and Soy Flour, Feeds, and Mixed Feeds. St. Paul, Minn, USA.

Adams, G.G, Imran, S, Wang, S, Mohammad, A., Kok, S., Gray, D.A., Chanell, G.A., Morris, G.A., Harding, S.E. (2011) The hypoglycaemic effect of pumpkins as antidiabetic and functional medicines. *Food Res. Int.* **44**, 862-867.

Al-Khalifa, A. S. (1996) Physicochemical characteristics, fatty acid composition, and lipooxygenase activity of crude pumpkin and melon seed oils. *J. Agric. Food Chem.* **44**, 964–966.

American Gastroenterological Association (2001) Medical Position Statement: celiac sprue. *Gastroenterology* 120, 1522–1525.

Andrade-Cetto A., Heinrich M. (2005) Mexican plants with hypoglycemic effect used in the treatment of diabetes. *J. Ethnopharmacol.* **99**, 325-348

Angioloni A., Collar, C. (2009) Bread crumb quality assessment: a plural physical approach. *Eur. Food Res. Technol.* **229** (1), 21-30.

Arendt, E.K., Morissey A., Moore, M.M., Dal Bello, F. (2008) Gluten-free breads. U: *Gluten-free cereal products and beverages* (Arendt E.K., Dal Bello F., ured.), Elsevier Inc., Burlington, str. 289-311.

Arteaga, G.E., Li-Chan, E., Vazquez-Arteaga, M.C., Nakai S. (1994) Systematic experimental designs for product formula optimization. *Trends Food Sci. Technol.* **5**(8), 243-254.

Bezglutenska prehrana: zdravstveni rizici, dodatni zahtjevi i primjeri u praksi, (2016) Hrvatska gospodarska komora, Zagreb

Catassi, C. (2005) The world map of celiac disease. *Acta Gastroenterol. Latinoam.* **35**, 37–55.

Catassi, C., Bai J., Bonaz, B., Bouma, G., Calabro, A., Carroccio, A., Castillejo, G., Giacci, C., Cristofori, F., Dolinsek, J., Francavilla, R., Elli, L., Green, P., Holtmeier, W., Koehler, P., Koletzko, S., Meinhold, C., Sanders, D., Schumann, M., Schuppan, D., Ullrich, R., Vescei, A.,

Volta, U., Zevallos, V., Sapone, A., Fasano, A. (2013) Non-celiac gluten sensitivity: The new frontier of gluten related disorders. *Nutrients* **5**(10), 3839-3853.

Catassi, C., Fabiani, E., Ratsch, I. M. (1996) The coeliac iceberg in Italy. A multicentre antigliadin antibodies screening for coeliac disease in school-age subjects. *Acta Paediatr. Suppl.* **412**, 29–35.

Catassi, C., Fasano, A. (2008) Celiac disease. U: *Gluten-free cereal products and beverages* (Arendt E.K., Dal Bello F., ured.), Elsevier Inc., Burlington, str. 1-22.

Catassi, C., Ratsch, I. M., Fabiani, E. (1994) Coeliac disease in the year 2000, exploring the iceberg. *Lancet* **343**, 200–203.

Christa, K., Eskin, A.M., Tkachuk, R., (2008) Buckwheat rains buckwheat product-nutritional and prophylactic value of their components-review. *Czech. J. Food Sci.* **26**, 153-162.

Christensen, C.M. (2013) Colour Measuremenet and Analysis in Fresh Processed Foods: A review. *Food and Bioprocess Technology* **6**(1), 36–60.

Codex Alimentarius Commission (2003) Draft revised standard for gluten free foods. Report of the Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Alimentarius Commission, Twenty-fifth Session. Paragraphs 9 and 10 Rome

EFSA (2014) EFSA – European Food Safety Authority, Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes, Parma, 13-14.

Egan, H, Kirk, R., Sawyer, R. (1981) The Luff Schoorl method. Sugars and preserves. In: Pearson`s chemical analysis of foods. 8th edition, Longman Scientific and Technical: Harlow, UK, pp. 152-153.

FAOSTAT (2014) Database. FAOSTAT- Food and Agriculture Organization of the United Nations, <<http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>>. Pristupljeno 3. prosinca 2014. godine.

Freemark, M., Levitsky, L.L. (2006) Screening for Celiac Disease in Children With Type 1 Diabetes: two views of the controversy. *Diabetes Care* **29**, 2483-2488.

Giami, S.Y., Isichei, I. (1999) Preparation and properties of flours and protein concentrates from row, fermented and germinated fluted pumpkin (*Telfaria occidentalis*) seeds. *Plant Foods Hum. Nutr.* **54**, 67-77.

Giammi, S.Y., Mepba, H.D., Kiin-Kabari, D.B., Achinewhu, S.C. (2003) Evaluation of the nutritional quality of breads prepared from wheat-fluted pumpkin (*Telfaria occidentalis* Hook) seed flour blends. *Plant Foods Hum. Nutr.* **58**, 1-8.

Habiyaremye, C., Matanguihan, J.B., Guedes, J.D., Ganjyal, G.M., Whiteman, M.R., Kidwell, K.K., Murphy, K.M. (2016) Proso millet (*Panicum miliaceum* L.) and its potential for cultivation in the pacific northwest, U.S: A review. *Front. Plant Sci.* **7**, 1-6.

Hager, A. S., Axel, C., Arendt, E. A. (2011) Status of Carbohydrates and Dietary Fiber in Gluten-free Diets. *Cereal Foods World*, **56**, 109-114.

Hager, A. S., Zannini, E., Arendt, E. A. (2012) Literature Review on the Formulation of Breads for Specific Dietary Requirements. U: Breadmaking: Improving quality (Cauvain, S., ured.) Woodhead Publishing.

HRN ISO 1871:1999, Poljoprivredni prehrambeni proizvodi - Općenite upute za određivanje dušika Kjeldahlovom metodom (osnovna referentna metoda).

Jin, H., Zhang, Y-J., Jiang, J-X., Zhu, L-Y., Chen, P., Li, J., Yao, H-Y- (2013) Studies on the extraction of pumpkin components and their biological effects on blood glucose of diabetic mice. *J. Food Drug Anal.* **21**, 184-189.

Kadan, R.S., Robinson, M.G., Thibodeaux, D.P., Pepperman, A.B. (2001) Texture and other physicochemical properties of whole rice bread. *J. Food Sci.* **66**, 940-944.

Kalinova, J., Moudry, J. (2006) Content and quality of protein in proso millet (*Panicum miliaceum*) varieties. *Plant Foods Hum. Nutr.* **61**, 45-49.

Lin, L-Y., Liu, H-M., Yu, Y-W., Lin, S-D., Mau, J-L. (2009) Quality and antioxidant property of buckwheat enhanced wheat bread. *Food Chem.* **112**(4), 987-991.

Longe, O.G., Farinu, G.O., Fetuga, B.L. (1983) Nutritional value of the fluted pumpkin (*Telfaria occidentalis*) *J.Agric. Food Chem.* **31**, 989-992.

Marchese, A., Lovati, E., Biagi, F., Corazza, G.R. (2012) Coeliac disease and type 1 diabetes mellitus: epidemiology, clinical implications and effects of gluten-free diet. *Endocrine* **43** (1), 1-2.

- Marco, C., Rosell, C.M. (2008) Functional and rheological properties of protein enriched gluten free composite flours. *J. Food Eng.* **88**, 94-103.
- Martucci, S., Biagi, F., Di Sabatino, A., Corazza, G.R. (2002) Coeliac disease. *Dig. Liver Dis.* **34**, S150–S153.
- Mcsweeney M. (2014) Proso millet as an ingredient in foods common to North Americans, Doctoral dissertation. The atrium; University of Guelph
- Mcsweeney, M.B., Ferenc, A., Smolkova, K., Lazier, A., Tucker, A., Seetharaman, K., Wright, A., Duizer, L.M., Ramdath, D.D. (2017) Glycaemic response of proso millet-based (*Panicum miliaceum*) products, *Int. J. Food Sci. Nutr.* **68**(7), 873-880.
- Milovanović, M., Demin, M.A., Vucelić-Radović, B.V., Žarković, B.M., Stikić, R.I. (2014) Evaluation of the nutritional quality of wheat bread prepared with quinoa, buckwheat and pumpkin seed blend. *J. Agric. Sci.* **59**, 319-328.
- Packer, S.C., Dornhorst, A., Frost, G.S. (2000) The glycaemic index of a range of gluten-free foods. *Diabet. Med.* **17**, 657-660.
- Pankaj, B. P., Umezurike, L.O., Fahad, A.A.: (2013) Colour Measurement and Analysis in Fresh Processed Foods: A review. *Food and Bioprocess Technology*, **6**(1), 36–60.
- Poulain, C, Johanet, C, Delcroix, C, Levy-Marchal, C, Tubiana-Rufi, N. (2007) Prevalence and clinical features of celiac disease in 950 children with type 1 diabetes in France. *Diabetes Metab.* **33**(6), 453–458.
- Pravilnik o metodama uzimanja uzoraka i metodama fizikalnih i kemijskih analiza za kontrolu kvalitete žita, mlinskih i pekarskih proizvoda, tjestenina i brzo smrznutih tijesta (1988), Zagreb, *Narodne novine*, broj 74 (NN 74/88).
- Pravilnik o navođenju hranjivih vrijednosti (2009), Zagreb, *Narodne novine*, broj 29 (NN 29/09).
- Pravilnik o prehranbenim i zdravstvenim tvrdnjama (2010), Zagreb, *Narodne novine*, broj 84 (NN 84/10).
- Provedbena Uredba Komisije (EU) br. 828/2014 o zahtjevima za informiranje potrošača o odsutnosti ili smanjenoj prisutnosti glutena u hrani, *Službeni list Europske Unije* **828**, Bruxelles.

- Rosell, C. M., Collar, C., Haros, M. (2007) Assessment of hydrocolloid effects on thermomechanical properties of wheat using the Mixolab. *Food Hydrocoll.* 21(3), 452–462.
- Sabanis, D., Lebesi, D., Tzia, C. (2009) Effect of dietary fibre enriched on selected properties of gluten-free bread. *LWT – Food Sci.Technology* 42(8), 1380-3189.
- Sacks, G., Rayner M., Swinburn, B. (2009) Impact of front-of-pack „traffic-light“ nutrition labelling on consumer food purchases in the UK. *Health Promot Inst.* 24(4), 344-352.
- Saeleaw, M., Schleining, G. (2011) Composition, physicochemical and morphological characterization of pumpkin flour ICE11-11th International congress on engineering and food „Food process engineering in a changing world“, Atena, Travanj 10-13, 2011.
- Saturni, L., Fereti, G., Bacchetti, T. (2010) The gluten-free diet: Safety and nutritional quality. *Nutrients* 2, 16-34.
- Scazzina, F., Dall'Asta, M., Pellegrini, N., Brighenti, F. (2015) Glycemic index of some commercial gluten-free foods. *Eur J Nutr* 54, 1021-1026.
- Schoenlechner, R., Szatmari, M., Bagdi, A., Tömösközi, S (2013) Optimisation of bread quality produces from wheat and proso millet (*Panicum miliaceum* L.) by adding emulsifiers, transglutaminase and xy.lanase. *LWT – Food Sci.Technology* 51(1), 361-366.
- Singh, K.P., Mishra, A., Mishra, H.N. (2012) Fuzzy analysis of sensory attributes of bread prepared from millet-based composite flours. *LWT – Food Sci.Technology* 48(2), 276-282.
- Smerdel, B., Pollak, L., Novotni D., Čukelj, N., Benković, M., Lušić, D., Ćurić, D. (2012) Improvement of gluten-free bread quality using transglutaminase, various extruded flours and protein isolates. *JFNR* 51, 1-12.
- Sojak, M., Głowacki, S. (2010) Analysis of Giant Pumpkin (*Cucurbita maxima*) Drying Kinetics in Various Technologies of Convective Drying. *J. Food Eng.* 99, 323-329.
- Storck, C.R., Zavareze, E. da R., Gularte M., A., Elias, M., C., Rosell, C.M., Dias, A. R. (2013) Protein enrichment and its effects on gluten-free bread characteristics. *LWT - Food Sci.Technology* 53(1), 346-354.

Thimmaiah, G.T., Dennis, M., Leffler, D.A. (2014) Nutritional consequences of celiac disease and the gluten-free diet. *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **8** (2), 123-129.

Thompson, T. (2000) Folate, iron and dietary fibre contents of the gluten-free diet. *J. Am. Diet. Assoc.* **1000**, 1389–1396.

Toufeili, I., Dagher, S., Shadarevian, S., Nouredine, A., Sarakbi, M., Farran, M.T. (1994) Formulation of gluten-free pocket-type flat breads - optimization of methylcellulose, gum-arabic, and egg-albumin levels by response-surface methodology. *Cereal Chem.* 71, 594-601.

Uredba (EU) br. 1169/2011 o informiranju potrošača o hrani (2011) *Službeni list Europske Unije* **304**, Strasbourg.

Uredba (EU) br. 609/2014 o hrani za dojenčad i malu djecu, hrani za posebne medicinske potrebe i zamjeni za cjelodnevnu prehranu pri redukcijskoj dijeti (2013) *Službeni list Europske Unije* **181**, Bruxelles.

Zakon o hrani za posebne prehrambene potrebe (2013), Zagreb, *Narodne novine*, broj 39 (NN 39/13).

Zhou, T., Kong, Q., Huang, J., Dai, R., Quanhong, L. (2007) Characterization of nutritional components and utilization of pumpkin. *Food* 1(2), 313-321.

7. PRILOZI

Prilog 1. Upitnik za ocjenjivanje senzorskih svojstava kruha

IME I PREZIME _____ DATUM _____

BEZGLUTENSKI KRUH OD PROSA, BUĆINE POGAČE I HELJDE

Odredite u svim uzorcima **intenzitet pojednog senzorskog svojstva** na skali **od 0 do 10**, gdje je:

- 0** – potpuno neizraženo
5 – umjereno izraženo (očekivano za vrstu kruha)
10 – naročito visoko izraženo

Karakteristika	Uzorak 1	Uzorak 2
Boja kore VRH (smeđa)		
Boja kore DNO (smeđa)		
Boja sredine (zelena)		
Poroznost (izgled sredine)		
Miris		
Mrvljivost (pod prstima)		
Žvkljivost		
Gumenost		
Okus		
Okus “po zemlji”		
Okus “po žgancima”		
Okus “po kemikalijama”		
Neugodan naknadi okus (aftertaste)		

Prilog 2. Deklaracija bezglutenskog kruha od 12,7 % bučine pogače i 10 % prosa**Bezglutenski kruh od 12,7 %
bučine pogače i 10 % prosa**

Dijetetski proizvod za prehranu bez glutena.

Sastojci: voda, rižino brašno (62,3 %), heljdino brašno (15 %), bučina pogača (12,7 %), proseno brašno (10 %), bjelanjak, kvasac, sol, šećer, zgušnjivači: hidroksipropil metil celuloza, guar guma.

Zemlja podrijetla: Hrvatska.

Stavlja na tržište: Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Pierottijeva 6, 10000 Zagreb



Prosječne hranjive vrijednosti na 100 g	
Energetska vrijednost	881 kJ/209 kcal
Masti	3,4
<ul style="list-style-type: none"> od toga zasićene masne kiseline 	0,49
<ul style="list-style-type: none"> od toga nezasićene masne kiseline 	2,7
Ugljikohidrati	21
<ul style="list-style-type: none"> od toga šećeri 	2,3
Vlakna	5,2
Bjelančevine	21
Sol	4,6

Najbolje upotrijebiti do: vidi na donjoj stranji pakiranja.

Čuvati na hladnom i suhom mjestu.
Pakirano u kontroliranoj atmosferi.

Izvor vlakana
Bogato proteinima



500 g e

Prilog 3. Deklaracija bezglutenskog kruha od 50 % prosa i 13 % bučine pogače**Bezglutenski kruh od 50 % prosa i 13 % bučine pogače**

Dijetetski proizvod za prehranu bez glutena.

Sastojci: voda, proseno brašno (50 %), rižino brašno (22 %), bučina pogača (13 %), heljdino brašno (15 %), bjelanjak, kvasac, sol, šećer, zgušnjivači: hidroksipropil metil celuloza, guar guma.

Zemlja podrijetla: Hrvatska.

Stavlja na tržište: Prehrambeno biotehnološki fakultet, Pierottijeva 6, 10000 Zagreb



Prosječne hranjive vrijednosti na 100 g	
Energetska vrijednost	819 kJ/208 kcal
Masti	2,9
<ul style="list-style-type: none"> od toga zasićene masne kiseline 	0,44
<ul style="list-style-type: none"> od toga nezasićene masne kiseline 	2,3
Ugljikohidrati	21
<ul style="list-style-type: none"> od toga šećeri 	1,8
Vlakna	4,8
Bjelančevine	22
Sol	4,6

Najbolje upotrijebiti do: vidi na donjoj stranji pakiranja.

Čuvati na hladnom i suhom mjestu.
Pakirano u kontroliranoj atmosferi.

Izvor vlakana
Bogato proteinima



500 g e

Prilog 4. Slike ispečenog kruha s različitim udjelom bučinog brašna



Slika 1. Bezglutenski kruh, 10 % bučina pogača, 10 % proseno brašno



Slika 2. Bezglutenski kruh, 30 % bučina pogača, 20 % proseno brašno



Slika 3. Bezglutenski kruh, 30 % bučina pogača, 30 % proseno brašno